Gaswechselmessungen mit rotierenden Platin-Elektroden

Dissertation

zur

Erlangung des Grades eines Doktors

der Naturwissenschaften

dem Fachbereich Biologie

der

Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

Karl Hermann Harms

aus Wuppertal

1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547609_0077

Gaswechselmessungen mit rotierenden Platin-Elektroden

Dissertation
zur
Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

dem Fachbereich Biologie
der
Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Karl Hermann Harms
aus Wuppertal

1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 9. Juli 1970

Dekan: Professor Dr. W. Seyffert

1. Berichterstatter: Professor Dr. H. Metzner
2. Berichterstatter: Professor Dr. H. Mauser
3. Berichterstatter: Professor Dr. B. Schwemmle

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG · Tübingen

Dem Direktor des Instituts für Chemische Pflanzenphysiologie,

meinem verehrten Lehrer,

Herrn Professor Dr. H. Metzner,

danke ich für die Anregung zu dieser Arbeit, für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes und für seine vielseitige Förderung bei der Durchführung der Arbeit.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
METHODIK	6
A. Versuchsobjekt	6
B. Polarograph	7
C. Elektrodensystem	8
D. Meßgefäße	11
E. Eichung	16
F. Beleuchtungseinrichtung	19
G. Strahlungsmessung	20
H. Meßanordnung	21
EXPERIMENTELLER TEIL	23
VORVERSUCHE	
A. Eigenschaften des Elektrodensystems	23
B. Reststromcharakteristik	23
C. Sauerstoffstufen	26
D. Zeit - Stromstärke - Kurven	28
E. Ableitung der Zeit-Stromstärke-Kurven	29
F. Versuche mit der rotierenden Graphit-Elektrode	31
G. Eichung des Systems	32
H. Prüfung der Synchronisation der verwendeten Algensuspensionen	35
HAUPTVERSUCHE	
I. Induktionserscheinungen	36
K. Emerson - Effekt	40
L. Aktionsspektrum der Photosynthese	41
M. Ausscheidung eines Oxidationsmittels unter anaeroben Bedingungen	48

DISKUSSION
A. Das O_2-Meßsystem 54
B. Die Reststromcharakteristik 57
C. Die Aktionsspektren 58
D. Das ausgeschiedene Oxidationsmittel 61
E. Zusammenfassung 63
ZUSAMMENFASSUNG 64
LITERATURVERZEICHNIS 65

I. EINLEITUNG

Bei der Messung von Photosynthese und Atmung hat man sich seit jeher darauf konzentriert, Konzentrationsänderungen von Anfangs- und Endprodukten zu bestimmen. Legt man die Bilanzgleichung

$$6\ CO_2 + 6\ H_2O \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2$$

zugrunde, so bedeutet das praktisch die Messung des Gaswechsels von CO_2 und/oder O_2.

Bei höheren Pflanzen stehen aus meßtechnischen Gründen noch immer Messungen der CO_2-Konzentrations-Schwankungen - insbesondere mit dem Ultrarot-Absorptions-Schreiber (URAS) - im Vordergrund. Gelegentlich hat man auch für einige autotrophe Einzeller die Photosyntheserate durch die Messung des Einbaus von radioaktivem CO_2 bestimmt. Es darf jedoch nicht vergessen werden, daß Aufnahme und Einbau des Kohlenstoffs selbst Dunkelreaktionen darstellen und daß aus deren Geschwindigkeit nicht auf den Verlauf der Photoreaktionen geschlossen werden kann.

Demgegenüber verdanken wir O_2-Messungen entscheidende Einblicke in die photochemischen Teilprozesse der Photosynthese. Sie haben uns wertvolle Aufschlüsse über die Abhängigkeit der Photosyntheserate von Lichtqualität und -intensität, Temperatur und Gaszusammensetzung der Atmosphäre, schließlich über die sogenannten "Induktionserscheinungen" und den Quantenbedarf geliefert. Zusammen mit Messungen der CO_2-Aufnahme haben sie es erlaubt, den assimilatorischen Quotienten $\frac{\text{Mol } O_2}{\text{Mol } CO_2}$ zu berechnen.

Einen wesentlichen Fortschritt der Photosyntheseforschung stellte der Nachweis zweier Lichtreaktionen dar, der auf O_2-Messungen von EMERSON und LEWIS 1943, TANADA 1951 und EMERSON, CHALMERS und CEDERSTRAND 1957 zurückgeht. Demnach ist die Sauerstoffentwicklung nur an das sogenannte "Photo-

system II" gebunden, während das von energieärmeren Quanten anregbare "Photosystem I" allein den Elektronentransport zur Stufe des Ferredoxins und die Bildung von ATP besorgt. O_2-Messungen lieferten deshalb vor allem Einblicke in das Photosystem II (z.B. BANNISTER and VROOMAN 1964, BRIANTAIS 1967, FORK 1963, GINGRAS and LEMASSON 1965, GOVINDJEE and RABINOWITCH 1960, JOLIOT 1961, 1965a, 1965b, 1968 JOLIOT, BARBIERI et CHABAUD 1969, JOLIOT and JOLIOT 1968, JOLIOT, JOLIOT and KOK 1968, JOLIOT et LAVOREL 1964, KOUCHKOVSKY et JOLIOT 1967, MYERS and GRAHAM 1963b, VIDAVER 1966).

Die modernen in der Biologie verwendeten O_2-Bestimmungsmethoden bedienen sich der physikalischen Eigenschaften dieses Gases. Die wenig spezifische Manometrie (Warburg-Technik) und die Massenspektrometrie bewirken eine für Photosynthesemessungen große Anzeigeverzögerung, während die Messung des Paramagnetismus nur in der Gasphase durchgeführt werden kann und sich deshalb bei Zellsuspensionen verbietet.

Wenn es darum geht, rasche Anderungen der O_2-Konzentration in Zellsuspensionen aufzuzeichnen, bleiben daher allein die elektrochemischen Verfahren. Unter ihnen stehen sich die galvanometrische Methode nach TÖDT (TÖDT 1958) und die voltammetrischen Methoden gegenüber. Bei der Voltammetrie wird die Anderung eines durch die Analysenlösung hindurchgehenden Stromes mit Hilfe einer inerten Elektrode verfolgt. An die Elektrode wird dabei eine kontinuierlich wachsende Spannung gelegt. Aus der resultierenden Spannungs-Stromstärke-Kurve lassen sich Aussagen machen über Qualität und Quantität der in der Lösung vorhandenen Stoffe (HEYROVSKY und ZUMAN 1959).

Die Grundlage der voltammetrischen O_2-Bestimmung ist eine O_2-Reduktion an der Meßelektrode, für die folgende Mechanismen mit Einelektronenübergängen angegeben werden (VETTER 1961, HOARE 1968).

1.: In sauren Lösungen bei Strömen von mehr als 10^{-6} A/cm^2:

$$(O_2)_{ads.} + e^- \xrightarrow{\text{langsam}} (O_2^-)_{ads.}$$

$$(O_2^-)_{ads.} + H^+ \rightleftharpoons (HO_2)_{ads.}$$

$$(HO_2)_{ads.} + e^- \rightleftharpoons (HO_2^-)_{ads.}$$

$$(HO_2^-)_{ads.} + H^+ \rightleftharpoons (H_2O_2)_{ads.}$$

$$2(H_2O_2)_{ads.} \xrightarrow{\text{katalyt}} 2\ H_2O + O_2$$

2.: In alkalischen Lösungen bei Strömen von mehr als 10^{-6} A/cm^2:

$$(O_2)_{ads.} + e^- \xrightarrow{\text{langsam}} (O_2^-)_{ads.}$$

$$(O_2^-)_{ads.} + H_2O \rightleftharpoons (HO_2)_{ads.} + OH^-$$

$$(HO_2)_{ads.} + e^- \rightleftharpoons (HO_2^-)_{ads.}$$

$$2\ HO_2^- \longrightarrow O_2 + 2\ OH^-$$

An der Bezugselektrode (einer Elektrode zweiter Art) spielt sich folgendes ab (VETTER 1961):

$$Me + A^- \longrightarrow MeA + e^-$$

Die gegenüber der Methode nach TÖDT geringere Störanfälligkeit spricht für die Voltammetrie, die ein weites Anwendungsgebiet gefunden hat.

In der analytischen Technik ist vor allem die Quecksilbertropfelektrode nach HEYROVSKY weit verbreitet. Sie ist gelegentlich auch für Messungen an lebenden Systemen benutzt worden (z.B. PETERING and DANIELS 1938, LORENZEN 1959, LUNDEGARDH 1966); es bleibt aber stets zu befürchten, daß die entstehenden Quecksilber-Ionen toxisch wirken (LORENZEN 1959).

Nachteilig ist überdies, daß der für die O_2-Bestimmung wesentliche Diffusions- oder Grenzstrom nur kleine Werte erreicht, und daß die registrierten Stromspannungskurven wegen der - durch den Ladestrom bedingten - "Zacken"-Bildung nur schwer auszuwerten sind.

Aus diesen Gründen wurde von vornherein angestrebt, die O_2-Messungen mit einer geeigneten Platin-Elektrode durchzuführen. Es ist möglich, weitgehende Spezifität der Messung für O_2 und Ausschluß einer eventuellen Vergiftung der Platinoberfläche durch Analysenlösungsbestandteile, die sich häufig in einer Herabsetzung der Wasserstoffüberspannung äußern, dadurch zu erreichen, daß die Meßprobe durch eine gasdurchlässige Kunststoffmembran z.B. aus Teflon von der KOH-umspülten Elektrode abgetrennt wird.

Bei dieser von CLARK, WOLF, GRANGER und TAYLOR 1953 erstmals beschriebenen und von CARRITT und KANWISHER 1959 grundsätzlich verbesserten Elektrode bringt der verlängerte O_2-Diffusionsweg jedoch eine beträchtliche Anzeigeverzögerung mit sich.

Für Messungen im Sekundenbereich muß die Elektrode daher in die Meßlösung selbst eintauchen. Da hier die Gefahr einer Vergiftung der Elektrode gegeben ist, bedarf die Reproduzierbarkeit der Meßwerte einer ständigen Kontrolle. Besonders wichtig wird es hier, die die Elektrode umgebende O_2-Diffusionsschicht konstant zu halten. Dies ist nur durch eine kontrollierte Relativbewegung zwischen Elektrode und Lösung zu erreichen. Das in der Biologie vielfach verwendete magnetische Rühren der Lösung ist mehr oder weniger Notbehelf, während die Rotation der Elektrode selbst die Konstanz der Diffusionsschicht am besten garantiert.

Eine geeignete rotierende Platin-Elektrode ist die von KOLTHOFF und LAITINEN (KOLTHOFF and LAITINEN 1940, LAITINEN and KOLTHOFF 1941a, 1941b) beschriebene Elektrode.

In der vorliegenden Arbeit soll versucht werden, eine Meßanordnung mit einer solchen Elektrode zu entwickeln, die eine reproduzierbare Messung rascher O_2-Konzentrationsänderungen

erlaubt. Die Konstruktion des Meßgefäßes sollte insbesondere die gleichzeitige Belichtung einer Algensuspension durch zwei Lichtbündel unterschiedlicher Intensität und Spektralzusammensetzung gestatten.

Auf diese Weise sollte die Photosyntheserate unter steady-state-Bedingungen und während des Ubergangs von Dunkelheit zu Licht und von Licht zu Dunkelheit untersucht werden. Außerdem war auf die angeblich nicht-additive Wirkung gleichzeitig eingestrahlter Lichtbündel unterschiedlicher Spektralzusammensetzung zu achten. Schließlich sollte der Einfluß von O_2-Mangel auf die Zellen untersucht werden.

II. METHODIK

A. Versuchsobjekt

Die Chlorophycee Chlorella pyrenoidosa CHICK (Stamm 211-8b der Algensammlung des Pflanzenphysiologischen Instituts der Universität Göttingen, identisch mit Chlorella fusca SHIHARA et KRAUSS) diente als Versuchsobjekt, das unter sterilen Bedingungen kultiviert wurde.

Sterile Stammkulturen wurden auf Schrägagarröhrchen mit 8 ml der von SENGER (1961) angegebenen Nährlösung in 1,8%igem Agar (DIFCO) gehalten. Die Massenanzucht erfolgte in flüssigem Medium in einem von LORENZEN 1959 und 1964 beschriebenen Lichtthermostaten. Die Temperatur des Wasserbades betrug 30 °C, die Beleuchtungsintensität an der Oberfläche der Kulturröhren rund 10 000 Lux. Dazu waren 4 Leuchtstoffröhren der Type Philips TL 40W/55 und 4 Röhren der Type Philips TL 40W/32 De Luxe erforderlich. Um eine ausreichende CO_2-Versorgung zu gewährleisten und um das Absinken der Algen zu verhindern, durchströmte ein Luft-CO_2-Gemisch (97:3) die mit jeweils 240 ml Suspension beschickten Kulturröhren. Das Wachstum der Kulturen wurde durch Zelldichtebestimmungen in einer Zählkammer ("Thoma neu", vgl. SENGER 1961) kontrolliert. Der sogenannten relativen Zellzahl 100 (= RZZ 100) entsprechen dabei $1{,}56 \cdot 10^6$ Zellen/ml.

Die aus den Agarkulturen abgeimpften Algen wurden in steriler Nährlösung suspendiert und im Lichtthermostaten zunächst für 1 bis 2 Tage Dauerlichtbedingungen ausgesetzt; erst dann erhielten sie einen Licht-Dunkel-Wechsel von 14 Stunden Licht und 10 Stunden Dunkel. Jeweils am Ende der Dunkelzeit erfolgte eine Verdünnung der Suspension auf die relative Zellzahl 100.

Zu den Versuchen selbst wurden die Algen am Ende der Dunkelzeit eines Synchronzyklus als Autosporen geerntet, abzentrifugiert, in frischer Nährlösung aufgeschwemmt und bis zur relativen Zellzahl 500 verdünnt. Während dieser Aufar-

beitung wurden die Algen möglichst kühl und dunkel gehalten. Konnten sie nicht sofort in die Meßgefäße übertragen werden, so wurden sie bei +4 °C (in Dunkelheit) aufbewahrt, um bis zum Versuchsbeginn die Atmungsrate klein zu halten.

B. Polarograph

Als Spannungsteiler und Strommeßgerät diente der "Polarecord E 261" (Serie 12) der Firma Metrohm, Herisau/Schweiz. MEITES 1965 bringt ausführliche Kenndaten des Polarecord und einen kritischen Vergleich mit anderen Geräten. Abb. 1 gibt ein Prinzipschema des Polarecord E 261 (nach WOLF 1960, 1961) wieder.

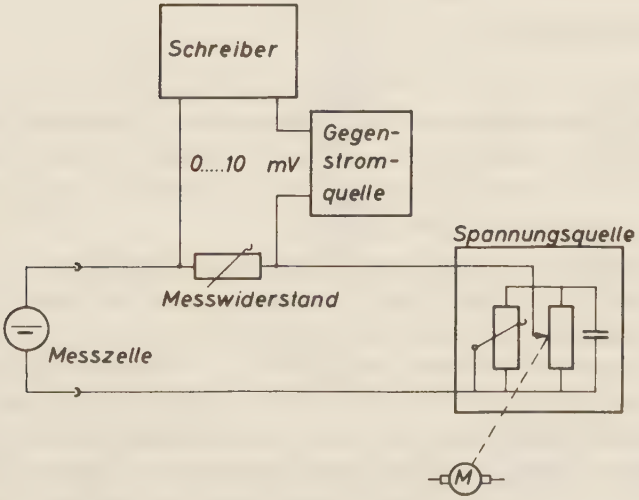

Abb. 1: Prinzipschema des Polarographen (nach WOLF 1960, 1961).
M: Motor.

Ursprünglich konnte der Schreiber nur Amplituden von 250 mm registrieren, so daß bei größeren Strömen die Schreiberempfindlichkeit herabgesetzt werden mußte. Das wirkte sich besonders bei Zeit-Stromstärke-Kurven ungünstig aus. Daher wurde das Gerät so umgebaut, daß bei Vollausschlag des Schreibers eine konstante Gegenspannung eingeschaltet wurde, wodurch sich der Schreibstift parallel um 250 mm auf die andere Seite verschob. Wegen der nun erreichten Registrierbreite von 500 mm konnte dann mit genügend hoher Schreiberempfindlichkeit gearbeitet werden.

An den registrierten Kurven lassen sich nur Stromstärkedifferenzen, aber nicht die absolute Höhe der Ströme feststellen, so daß im Bedarfsfall ein Mikroampèremeter in den Stromkreis geschaltet werden mußte.

Die im experimentellen Teil mehrfach genannte Dämpfung läßt sich in einer zehnteiligen Skala variieren.

C. Elektrodensystem

Die Messungen wurden mit einer in Glas eingeschmolzenen rotierenden Platinelektrode als Meßelektrode (KOLTHOFF and LAITINEN 1940, LAITINEN and KOLTHOFF 1941a, 1941b) durchgeführt. Abb. 2 zeigt die an das Spezialmeßgefäß (vgl. Abschnitt D) angepaßte Elektrode+).

Diese insgesamt 170 mm lange Elektrode, deren Welle aus Glas einen Durchmesser von 6 mm hatte, lief in einer 71 mm langen Glashülse, wobei Welle und Hülse sorgfältig aufeinander eingeschliffen waren. Der untere Abschnitt der Welle wurde als Glasschraube ausgebildet, womit ein Absinken der Zellen während der Messung verhindert werden konnte. Die Elektrode selbst - ein Platindraht von 0,8 mm Durchmesser und etwa 4 mm freier Länge - ragte über der Glasschraube aus der Welle senkrecht zur Welle hervor.

+): Die Anfertigung der Elektrode verdanke ich der Firma Metrohm, Herisau/Schweiz.

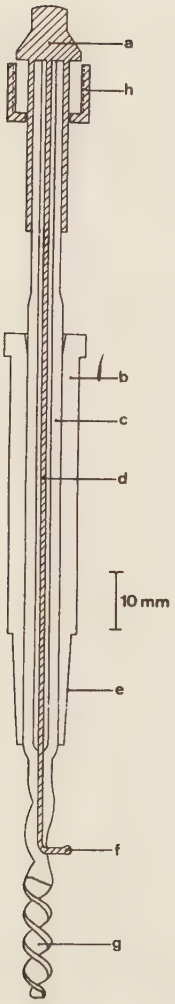

Abb. 2: Rotierende Pt-Elektrode für das Spezialmeßgefäß. Schnitt durch die Elektrode mit Darstellung der Glasschraube in Aufsicht. Alle Metallteile sind schraffiert dargestellt.
a und h: Schraubkupplung für Antrieb und elektrischen Kontakt der Elektrode; b: Lagerhülse; c: Elektrodenwelle; d: Draht als Verbindung zwischen a und f; e: Normschliff (NS 10/19); f: eigentliche Elektrode aus Platin; g: Glasschraube als Teil der Welle.

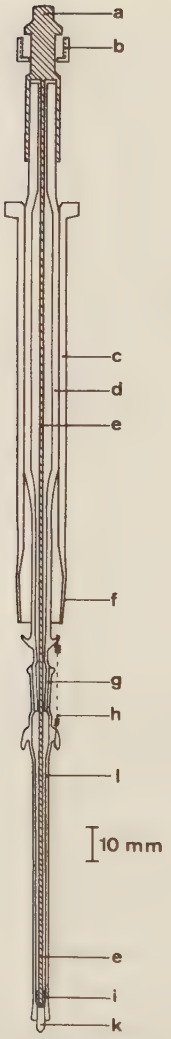

Abb. 3: Rotierende Graphitelektrode für das Metrohm-Meßgefäß. Schnitt durch die Elektrode; Metallteile schraffiert.
a und b: Schraubkupplung für Antrieb und elektrischen Kontakt der Elektrode; c: KPG-Lagerhülse; d: KPG-Rührerwelle; e: Draht als Verbindung zwischen i und a; f: Verkürzter Normschliff (NS 14,5/13,5); g: Normschliff (NS 5/13); h: Feder zwischen Ober- und Unterteil der Elektrode; i: Quecksilber-Verbindung zwischen Graphit (k) und e; k: eigentliche Graphitelektrode; l: Elektrodenunterteil.

Die zum Metrohm-Meßgefäß (vgl. Abschnitt D) mitgelieferte rotierende Pt-Elektrode zeigte prinzipiell den gleichen Aufbau. Als Welle und Hülse waren hier KPG-Rohre verwendet worden; der Normschliff war an die Hülse angesetzt und nicht auf die Hülse geschliffen. Auch fehlte ursprünglich die Glasschraube, die zu Beginn der Messungen der Welle zugefügt wurde.

Versuchsweise wurde auch eine rotierende Graphitelektrode verwendet, die in Abb. 3 im Schnitt dargestellt ist.

Die Wellen aller verwendeten Elektroden wurden durch einen Synchronmotor angetrieben (750 Umdrehungen/min; 220 Volt, 0,5 Watt; Hersteller: Magnetic AG. Liestal/Schweiz). Als Schmiermittel für den innerhalb der Hülse laufenden Teil der Welle diente "Stirr-ol" (Glasbläserei Hans Schmidt, Zofingen/Schweiz).

Als schwer polarisierbare Gegenelektrode wurde eine Ag/AgCl-Elektrode der Firma Metrohm verwendet. Die Elektrode war über eine KCl-Agar-Brücke mit der Meßzelle verbunden. Die eigentliche Verbindung besorgte ein Pfropf aus 2%igem Agar mit gesättigter KCl-Lösung, der durch eine grobporige Glasfritte vom Inhalt der Meßzelle getrennt war.

D. Meßgefäße

Die ersten Messungen wurden mit dem temperierten Glasgefäß durchgeführt, das von der Firma Metrohm serienmäßig zum Polarecord E 261 geliefert wird. Dieses Gefäß wird in dieser Arbeit als Metrohm-Meßgefäß bezeichnet und ist in Abb. 4 im Schnitt dargestellt.

Es zeigte sich jedoch bald, daß das Gefäß für photobiologische Arbeiten ungeeignet war: Einerseits ist für O_2-Messungen der Gasraum über der Flüssigkeit störend groß, andererseits lassen sich durch die runden Wandflächen hindurch die Meßproben nicht gleichmäßig und definiert bestrahlen. Aus diesem Grunde wurde ein eigenes Meßgefäß entwickelt, das für alle weiteren Messungen diente und in dieser Arbeit als Spezialmeßgefäß bezeichnet wird.

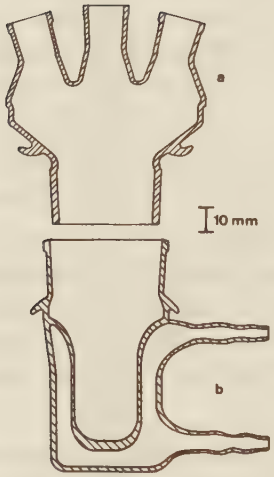

Abb. 4: Metrohm-Meßgefäß mit Temperiermantel im Schnitt. a: Oberteil mit 5 verkürzten Normschliffen (NS 14,5/15) für die Einführung von Elektroden, Thermometern u.a.; b: Unterteil mit Thermostatenmantel. Ober- und Unterteil sind durch verkürzten Normschliff (NS 45/23) verbunden.

An die Konstruktion dieses Gefäßes wurde eine Reihe von Bedingungen gestellt, um die angestrebten Meßergebnisse zu erreichen:

a: Verwendung einer rotierenden Platin-Elektrode,
b: Möglichkeit, 2 Lichtbündel gleichzeitig einzustrahlen,
c: gleichmäßige Schichtdicke im Meßgefäß,
d: gute Temperierung der Meßprobe,
e: Vermeidung von Totvolumen,
f: Verwendung von Glas als Baumaterial.

Vorversuche mit einer deckellosen rechteckigen Küvette aus Plexiglas (10·40·40 mm^3) zeigten, daß damit trotz der für die Voltammetrie als ungünstig angesehenen Zellgeometrie (vgl. MEITES 1965) fast gleich gute Spannungs-Stromstärke-Kurven wie mit der Originalmeßzelle von Metrohm erhalten werden können.

Daraufhin wurde ein Meßgefäß in Küvettenform mit Temperierung konstruiert, das die angegebenen Bedingungen erfüllte. Die Ausführung dieser Glaskonstruktion verdanke ich der Firma Hellma & Co. (Müllheim/Baden).

Das Meßgefäß besteht aus zwei Teilen: der Küvette mit Temperiermantel und dem Deckel. Die Abb. 5 und 6 zeigen Aufsicht, Längs- und Querschnitt des Gefäßes und des Deckels.

Meßküvette und Deckel sind aus Spiegelglas. Dieses Material hat gegenüber den häufig verwendeten Polymethakrylaten Plexiglas und Lucite den Vorteil, daß es chemisch relativ indifferent ist und Gase praktisch nicht löst (GLEICHMANN und LÜBBERS 1960, SCHRAMM 1966). Außerdem ist Glas nicht so kratzempfindlich wie die Polymethakrylate und läßt sich leichter reinigen.

Die Meßzelle wurde als rechteckige Küvette ausgeführt, um gleichmäßige Schichtdicke zu erhalten. Es mußte allerdings in Kauf genommen werden, daß die Einsätze (Salzbrücke, Meßelektrode und Thermometer) als kleine Hindernisse im Strahlengang wirkten. Das ist aber kein Nachteil, weil die Algenzellen infolge der Turbulenz der Suspension ständig in Bewegung sind. Die großen Seitenwände der Küvette (45 x 52 mm^2) sind planparallel ausgebildet, so daß die Meßlösung gleichzeitig von 2 verschiedenen Lichtquellen mit Licht verschiedener Wellenlänge und Intensität definiert bestrahlt werden kann. Der Durchgang der Lichtbündel erfolgt also senkrecht durch die großen Seitenwände.

Gasauslaß und Flüssigkeitseinlaß sowie Gaseinlaß und Flüssigkeitsauslaß wurden zusammengelegt, um die Zahl der Meßzellenöffnungen zu reduzieren und um bruchempfindliche Be-

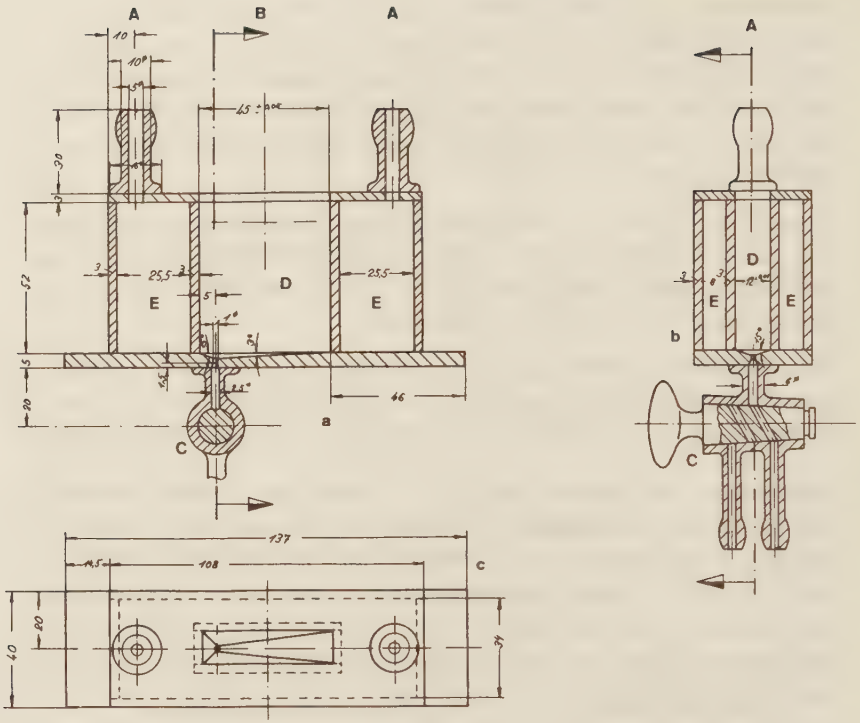

Abb. 5: Spezialgefäß für photobiologische O_2-Messungen (Angaben in mm).
a: Längsschnitt; b: Querschnitt; c: Aufsicht; A: Ein- und Ausgang für die Temperierflüssigkeit; B: Öffnung der Meßküvette, die mit dem in Abb. 6 dargestellten Deckel verschlossen wird; C: Einlaß für Gase und Auslaß für Flüssigkeiten über Zweiweghahn; D: Meßküvettenraum; E: Temperiermantel.

gasungskapillaren zu vermeiden. Die Bodenöffnung für den Gaseinlaß (bzw. den Flüssigkeitsauslaß) hat eine lichte Weite von nur 1 mm, damit möglichst kleine Gasblasen die Meßlösung durchperlen.

Das Meßgefäß kann vollständig gefüllt werden, so daß nach der Füllung keine den Gasaustausch und die O_2-Messung störenden Totvolumina auftreten. Nach der Messung kann die

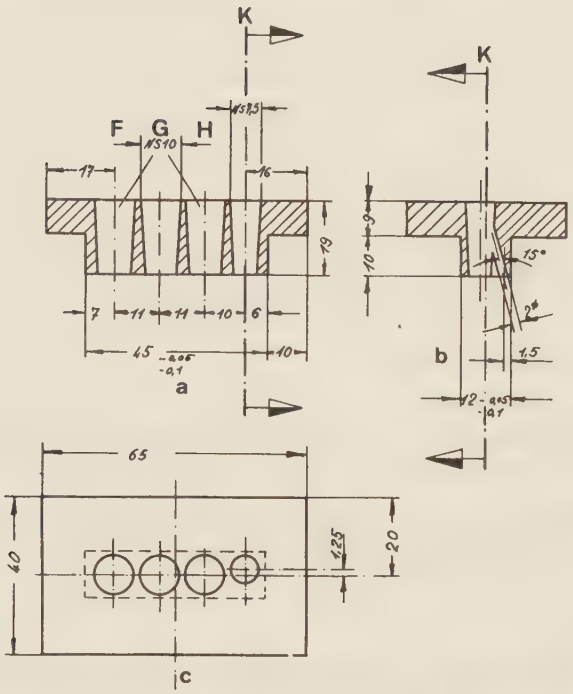

Abb. 6: Deckel des Spezialmeßgefäßes (Angaben in mm). a: Längsschnitt; b: Querschnitt; c: Aufsicht; F: Normschliff (NS 10/19) für die Salzbrücke; G: Normschliff (NS 10/19) für die rotierende Pt-Elektrode; H: Normschliff (NS 10/19) für das Thermometer; K: Verlängerter Normschliff (NS 7,5/19) mit Schliffkern mit seitlicher Bohrung für Flüssigkeitseinlaß und Gasauslaß.

Suspension leicht quantitativ durch die Bodenöffnung entfernt werden.

Zur Temperierung der Meßlösung ist die Küvette von einem Temperiermantel umgeben, dessen im Strahlengang liegende Glaswände (108 x 52 mm^2) optisch exakt planparallel geformt sind. Die Intensität des Lichtbündels wird aber nur geringfügig von diesem Mantel geschwächt. Alle Seitenwände der Küvette werden von Temperierflüssigkeit umspült, wodurch eine sehr gute Temperaturkonstanz ($\pm$0,1 ^{o}C) der Meßlösung erreicht wird.

Flüssige Zusätze können aus einer Spezialbürette zugegeben werden, in der sie zuvor auf die gewünschte Temperatur und den gewünschten O_2-Partialdruck gebracht worden sind.

Im Glasdeckel befinden sich 4 Normschliffdurchbohrungen: 1. Für die Salzbrücke, die die Verbindung zur Silberchlorid-Elektrode herstellt (NS 10/19), 2. für die rotierende Pt-Elektrode (NS 10/19), 3. für das Thermometer mit 1/5 °C-Teilung (NS 10/19), 4. für den Flüssigkeitseinlaß und Gasauslaß (NS 7,5/19). Hier läßt sich die Küvette durch Drehen des durchbohrten Schliffkerns in K (Abb. 6) mit minimalem Totvolumen verschließen.

Der Deckel wird durch zwei Federn auf die Küvette gepreßt und außerdem sorgen 3 Lagen der Kunststoffolie Parafilm "M" zwischen Deckel und Küvette für einen gasdichten Verschluß.

Das Meßgefäß wird in einer Spezialhalterung in einer definierten, jederzeit reproduzierbaren Stellung fixiert.

E. Eichung

Bei der voltammetrischen Bestimmung des Sauerstoffs werden Ströme gemessen, deren Stärke dem O_2-Partialdruck proportional ist (LONGMUIR and ALLEN 1961). Das Meßsystem mußte daher geeicht werden. Die Eichung erfolgte durch Kalibrierung der Proben im Meßgefäß mit Eichgasen definierter Zusammensetzung.

Die Eichgase wurden in einer Mischanlage hergestellt, die in Abb. 7 schematisch dargestellt ist.

Kernstück dieser Anlage sind 2 Gasmischpumpen (Typ NA 18/2F und Typ NA 27/2F) (Hersteller Firma Wösthoff, Bochum), mit denen sich je 2 Gase in einem definierten Verhältnis mischen lassen.

In der einen Mischpumpe (Na 18/2F) können die Gase in den Verhältnissen 50:50, 55:45, 60:40 usw. bis 90:10, in der anderen (NA 27/2F) in den Verhältnissen 90:10, 91:9, 92:8 usw. bis 99:1 gemischt werden. Die Kombination der beiden Pumpen (Abb. 7) ermöglicht die Herstellung von 235 Dreikomponenten-

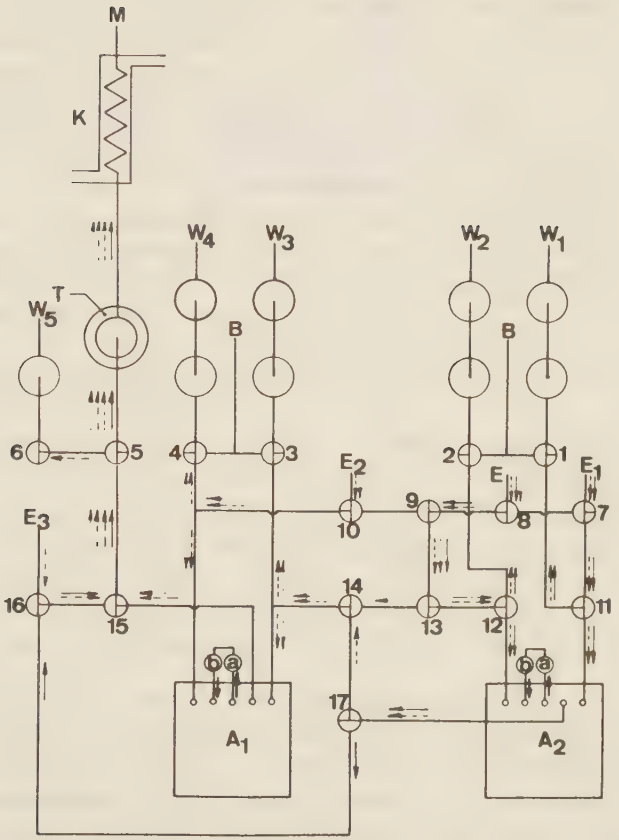

Abb. 7: Schema der Mischanlage zur Herstellung von Eichgasen.
A_1: Gasmischpumpe NA 27/2F (90:10 bis 99:1); A_2: Gasmischpumpe NA 18/2F (50:50 bis 90:10); B: Einlaß zur Kontrolle des gleichen Füllungsstandes von zwei Waschflaschensystemen; E, E_1 und E_2: Einlaß der zu mischenden Gase aus der Stahlflasche; E_3: Einlaß von Gasen, die unverändert dem Meßgefäß zugeführt werden

sollen; K: Gaskühler zur Erwärmung des Gasstroms fast bis zur Versuchstemperatur; M: Anschluß zum Meßgefäß; T: Temperierte Waschflasche zur Befeuchtung und zur Aufwärmung der Eichgase; W_1 bis W_4: Je zwei hintereinander geschaltete Waschflaschen zur Kontrolle des Eingangsdrucks der zu mischenden Gase und zum Austritt überschüssiger Gasmengen; W_5: Waschflasche mit vorgeschalteter Schlauchklemme zur Regulierung der Strömungsintensität der Gase von E_3; a: Glasgefäß zur Mischung der beiden in der Mischpumpe zusammengebrachten Gase; b: Abströmgefäß; 1 bis 17: Dreiweghähne.
Mischungswege:
——► : Mischung von 2 Gasen (50:50 bis 90:10);
– – –► : Mischung von 3 Gasen; ·····► : Mischung von 2 Gasen (90:10 bis 99:1); –·–·–►: Ungemischtes Gas.

gemischen. Beträgt z.B. der Anteil eines Gases 3 %, so können folgende Mischungen hergestellt werden (Angaben in %).

Gas A	Gas B	Gas C	Gas A	Gas B	Gas C
3	0	97	3	7	90
3	1	96	3	27	70
3	2	95	3	37	60
3	3	94	3	47	50
3	4,5	92,5			

Das meistverwendete Mischungsverhältnis von 4,5 % O_2, 3 % CO_2 und 92,5 % N_2 läßt sich nach den angegebenen Korrekturformeln mit einer Genauigkeit von ca. 0,5 % erzeugen. Um diese Genauigkeit zu erzielen, mußten die Eingangsdrücke der zu mischenden Gase gleich gehalten werden. Die Eingangsdrücke wurden über die Reduzierventile der Gasflaschen verändert und durch Waschflaschen (W_1 bis W_4) mit gleich hoher Wassersäule kontrolliert, die parallel zu den Gaszuleitungen in die Mischpumpen geschaltet waren, so daß überschüssiges Gas entweichen konnte. Vor jede dieser Waschflaschen ist eine leere Waschflasche geschaltet, um ein Zurücksteigen des Wassers in die Mischanlage zu verhindern. Die Einstellung gleich hoher Wassersäulen in W_1 und W_2 sowie in W_3 und W_4 erfolgte durch eine Schlauchverbindung zwischen W_1 und W_2

über die Dreiweghähne 1 und 2 sowie zwischen W_3 und W_4 über Dreiweghähne 3 und 4. Wurde vorsichtig in B eingeblasen (siehe Abb. 7), so strömte durch jedes der gepaarten Waschflaschensysteme nur dann Gas, wenn die Wassersäulen gleich hoch waren.

Die Mischanlage lieferte 315 ml Eichgasgemisch pro Minute. Bevor dieses das Meßgefäß erreichte, wurde es einmal in einer temperierten Waschflasche angewärmt und befeuchtet und dann zur Erwärmung bis zur Versuchstemperatur durch einen Dimroth-Kühler geschickt, bei dem die Gase durch die Glasspirale strömten, während die Flüssigkeit aus dem Thermostaten den äußeren Glaszylinder durchströmte.

F. Beleuchtungseinrichtung

In das Meßgefäß konnte von zwei gegenüberliegenden Seiten definiert mit Licht eingestrahlt werden. Als monochromatische Strahler fanden zwei Interferenzfilter-Monochromatoren nach SCHOSER 1966 der Firma Zeutschel Gerätebau (Hirschau/Württemberg) Verwendung. Beide wurden nach anfänglichen Versuchen mit der Ellipsoid-Reflektorlampe Osram Nr. 58.8212 (12 V, 150 W) auf die Halogen-Spiegellampe Osram 64634 (15 V, 150 W) umgerüstet.

Nach Angaben der Herstellerfirma entspricht die spektrale Energieverteilung dieser Lampe einer Farbtemperatur von 3400 ^{o}K. Die Lampen wurden so justiert, daß der vom Ellipsoid-Reflektor erzeugte Brennfleck in 29 mm Abstand vor dem Reflektorrand ein Bildfenster mit den Abmessungen 4,0 x 5,4 mm^2 ausleuchtete. Der zur Halogen-Spiegellampe gehörende Kaltlichtspiegel reflektiert im sichtbaren Bereich mehr als 90 % der auftreffenden Strahlung, während zwischen 320 und 420 nm sowie zwischen 700 und 800 nm nur ca. 30 % reflektiert werden.

Nach dem Bildfenster und einem Wärmeschutzglas (Schott-Filter KG 1) wurde das Lichtbündel durch zwei Projektionslinsen auf die Meßzelle konzentriert, zwischen denen das Interferenzfilter im Strahlengang fixiert war. Die Entfernung zwischen Kaltlichtspiegel und Meßküvette betrug 53 cm. Die

Beleuchtungseinrichtung wurde so montiert, daß der einmal fixierte Strahlengang nach Dejustierung der Geräte jederzeit zu reproduzieren war.

Zur Erzielung monochromatischer Strahlung wurden folgende Interferenzfilter der Firma Schott, Mainz verwendet:

λ_{max}	T_{max}	HWB	E	Typ
497	40	14	5 800	IL
509	37	13	5 300	PIL
551	34	18	8 550	DAL
615	42	16	11 000	DAL
630	45	10	7 800	PIL
649	36	14	7 900	PIL
676	31,5	18	6 150	DEPAL
685	43	14	6 000	PIL
694	33	20	5 100	DAL
728	48	24	6 100	AL

Dabei bedeuten:

λ_{max} = Wellenlänge der maximalen Durchlässigkeit (in nm);
T_{max} = Durchlässigkeit bei λ_{max} (in %);
HWB = Halbwertsbreite, d.h. Breite der Filterkurve bei $\frac{1}{2} T_{max}$;
E = Erzielbare Strahlungsenergie (in $erg \cdot cm^{-2} \cdot sec^{-1}$);
IL = Linienfilter, PIL = Präzisions-Linienfilter, AL = Bandfilter, DAL = Doppel-Bandfilter, DEPAL = Präzisions-Doppel-Bandfilter.

Außerdem wurden 2 Interferenzfilter der Firma Balzers, Balzers/Liechtenstein (Typ Filtraflex B-40) der Wellenlänge 650 und 703 nm verwendet.

G. Strahlungsmessung

Die Messung der Strahlungsenergie erfolgte mit einer kompensierten Thermosäule (Typ CA 1 der Firma Kipp & Zonen, Delft/Holland) mit einer Empfindlichkeit von $11,5 \cdot 10^{-9}$ Volt/$erg \cdot cm^{-2} \cdot sec^{-1}$. Um mit dem angeschlossenen Galvanometer (Multi-

flex-Galvanometer, Typ MG O, Hersteller: Dr. B. Lange, Berlin) möglichst große Ausschläge zu erzielen und um ungleiche Ausleuchtung so weit wie möglich zu berücksichtigen, fiel das Licht stets durch das größte Fenster der Thermosäule auf den Empfänger. Entweder bestimmte man für die einzelnen Lichtwellenlängen die Brennspannung der Monochromatorlampe, die erforderlich war, um einen bestimmten Galvanometer-Ausschlag zu erzielen, oder aber es wurde bei fester Brennspannung der Galvanometer-Ausschlag abgelesen.

Zur Messung selbst wurde die Thermosäule in kürzestmöglichem Abstand vom Meßgefäß reproduzierbar fixiert. Im Meßgefäß war der Temperiermantel und die eigentliche Meßzelle mit Wasser gefüllt; dagegen wurden die Platin-Elektrode und das Thermometer für die Dauer der Messung entfernt, um nicht den Strahlengang zu beeinträchtigen. Da sich erfahrungsgemäß erst nach einiger Zeit genügend konstante Meßwerte ergaben, wurde die Thermosäule stets schon eine Stunde vor Beginn der Messung aufgestellt, wahrscheinlich beeinträchtigten bei kürzerer Expositionszeit thermische Turbulenzen im Gehäuse der Thermosäule die Messungen.

H. Meßanordnung

Ein Blockschema der Meßanordnung ist in Abb. 8 wiedergegeben.

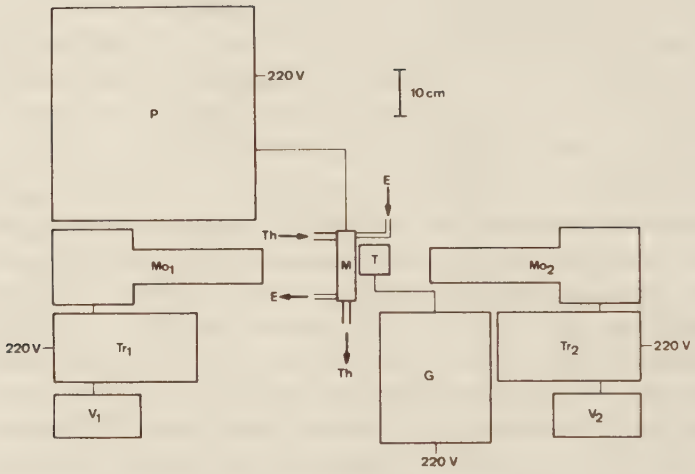

Abb. 8: Blockschema der Meßanordnung während der Messung der von einem Monochromator gelieferten Strahlungsenergie.
E: Eichgas; G: Multiflex-Galvanometer; M: Spezialmeßgefäß; Mo_1 und Mo_2: Interferenzfilter-Monochromatoren; P: Polarograph; T: Thermosäule; Th: von und zum Thermostaten; Tr_1 und Tr_2: Transformatoren; V_1 und V_2: Voltmeter (Multavi 5) zur Messung der Brennspannung der Monochromatorlampen.

III. EXPERIMENTELLER TEIL

VORVERSUCHE

A. Eigenschaften des Elektrodensystems

Für die geplanten Messungen waren vor allem die Sauerstoffempfindlichkeit der Meßanordnung sowie die Ansprechzeit der Elektrode wichtig. Die Empfindlichkeit hängt von der Größe der Elektrodenoberfläche ab. Bei einer Pt-Oberfläche von 8 mm^2 betrug sie $5 \cdot 10^{-7}$ A/Torr O_2. Die verwendeten Elektroden besaßen Oberflächen zwischen 4 und 14 mm^2 und zeigten eine entsprechende Empfindlichkeit.

Der O_2-Verbrauch durch die Pt-Elektrode mit 8 mm^2 Oberfläche ist kleiner als $1 \cdot 10^{-10}$ m O_2/min und konnte daher vernachlässigt werden.

Es lassen sich noch 10^{-10} m O_2/ml sicher nachweisen.

Die Ansprechzeit beträgt etwa 1 Sekunde; sie ist daher für die Messung selbst verhältnismäßig rascher Induktionserscheinungen kurz genug. Die Temperaturabhängigkeit der Elektrode wurde zwischen 10 und 40 °C vermessen. Die Empfindlichkeit steigerte sich in diesem Bereich um 1,7 % der Anzeige bei Erhöhung der Temperatur um 1 °C.

Es floß ein Photostrom, wenn die Pt-Elektrode belichtet wurde, der bei höchster Empfindlichkeit des Systems nachgewiesen werden konnte, allerdings nur bei 0 Volt ($U = \pm 0$ V, $I = 4 \cdot 10^{-9}$ A) (Abb. 9).

Da dieser Effekt bei -0,6 Volt unterhalb der Nachweisgrenze blieb, mußte er nicht bei den Messungen berücksichtigt werden.

B. Reststromcharakteristik

Da sich Pt-Elektroden sehr viel langsamer polarisieren lassen als Hg-Tropfenelektroden, mußte die günstigste Geschwindigkeit für die Spannungsänderung ermittelt werden. Dazu wurde die Reststromcharakteristik in 0,1 m KCl-Lösung unter N_2

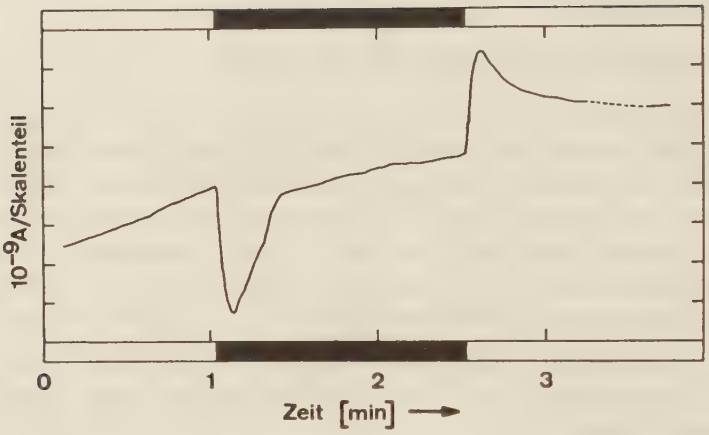

Abb. 9: Nachweis eines Photostroms bei Belichtung der Pt-Elektrode.
Spezialmeßgefäß; 0,1 m KCl-Lösung; 30 °C; begast mit Reinst-N_2; 0 Volt; Weißlicht (200 000 erg·cm·sec^{-1}); Dämpfung 5.

bei langsamem ($\frac{1}{3}$ Volt/min) und schnellem (2 Volt/min) Spannungsvorschub sowie nach der polarometrischen Methode aufgenommen. Bei diesem letzten Verfahren wird die Kurve Punkt für Punkt aufgenommen. Dabei wird in jedem Falle die angelegte Spannung so lange konstant gehalten, bis die Elektrode polarisiert ist, d.h. bis die Anzeige konstant bleibt. Die erhaltenen Kurven (Abb. 10) zeigen, wie sehr die Reststromcharakteristik der Elektrode von der Geschwindigkeit des Spannungsvorschubs abhängt.

Die zuverlässigsten Ergebnisse zeigt zweifellos die Methode der polarometrischen Messung, die andererseits aber so zeitraubend ist, daß sie bei Messungen mit Algensuspensionen nicht angewendet werden kann. Für das Messen der Strom-

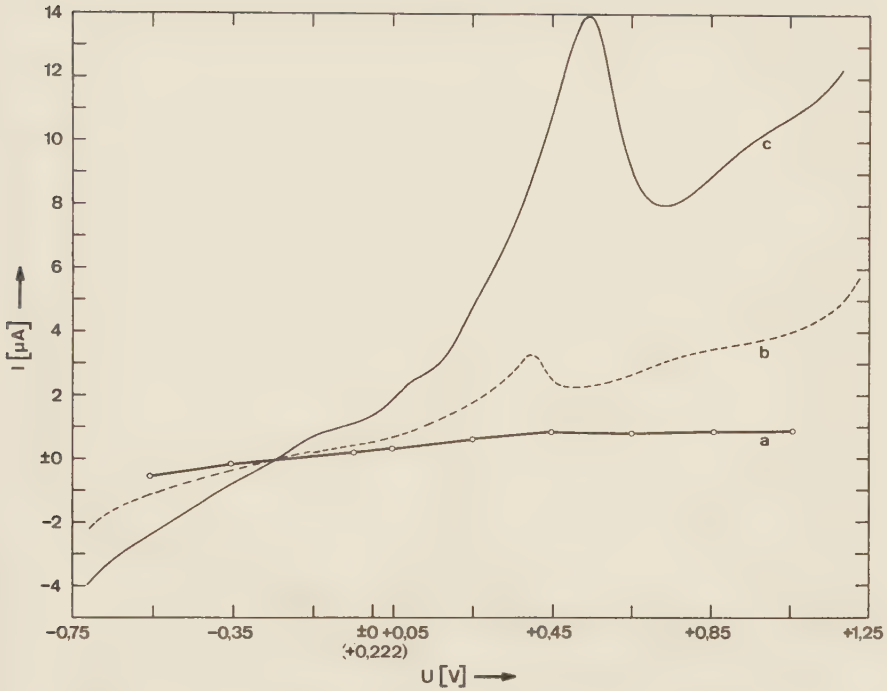

Abb. 10: Abhängigkeit der Reststromcharakteristik von der Geschwindigkeit des Spannungsvorschubs, Spezialmeßgefäß; 0,1 m KCl-Lösung; 30 °C; begast mit Reinst-N; Dämpfung 5. Die Spannungsangabe in Klammern gibt das Potential der Silberchloridelektrode gegen die Normalwasserstoff-Elektrode an. a: Polarometrische Messung (2 Minuten Wartezeit für jeden Meßpunkt); b: Spannungsvorschub 1/3 Volt/min und Papiervorschub 41,7 mm/min; c: Spannungsvorschub 2 Volt/min und Papiervorschub 250 mm/min.

Spannungs-Kurven wurde somit ein kontinuierlicher Spannungsvorschub von $\frac{1}{3}$ Volt/min gewählt.

Abb. 11 zeigt die Abhängigkeit der Reststromcharakteristik vom pH-Wert der Meßlösung. Eine Interpretation der Reststromcharakteristik wird in der Diskussion gegeben werden.

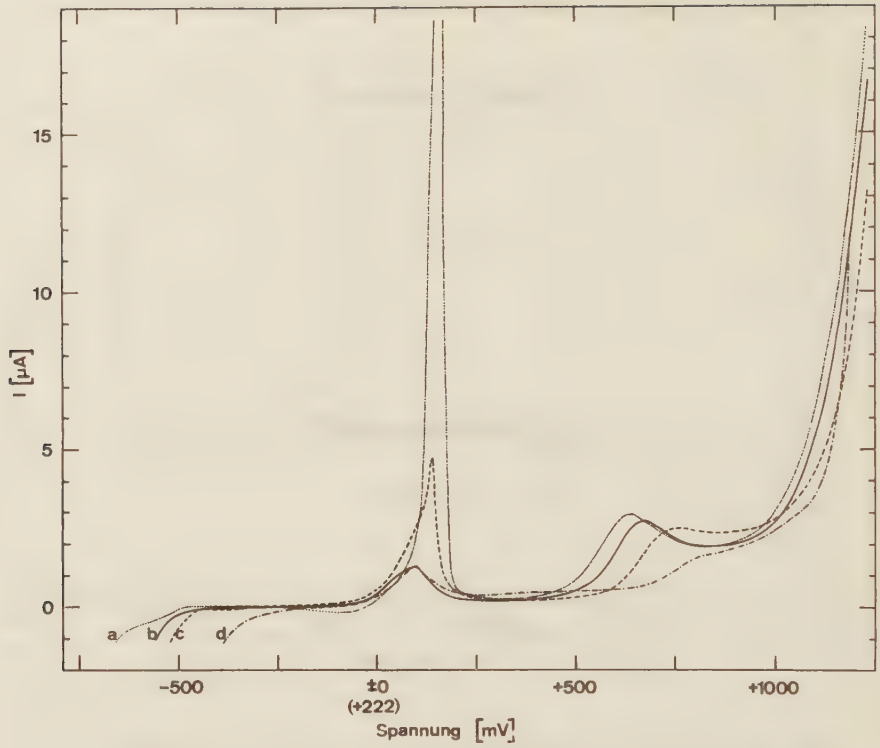

Abb. 11: pH-Abhängigkeit der Reststromcharakteristik. Metrohm-Meßgefäß; McIlvaine-Puffer und 1 m KCl-Lösung (4:1), 25 °C, begast mit Reinst-N_2, Dämpfung 7. Die Spannungsangabe in Klammern gibt das Potential der Silberchlorid-Elektrode gegen die Normalwasserstoff-Elektrode an. a: pH 7,98; b: pH 6,94; c: pH 5,94; d: pH 3,89.

C. Sauerstoffstufen

Die O_2-Stufe bei verschiedenen Partialdrücken (0, 76, 190 und 380 mm Hg) in 1 m KCl-Lösung wird in Abb. 12 gezeigt.

Das Halbstufenpotential der O_2-Stufe liegt bei -300 bis -380 mV, und der Beginn des Grenzstroms ist deutlich vom O_2-Partialdruck abhängig (vgl. JOLIOT 1961).

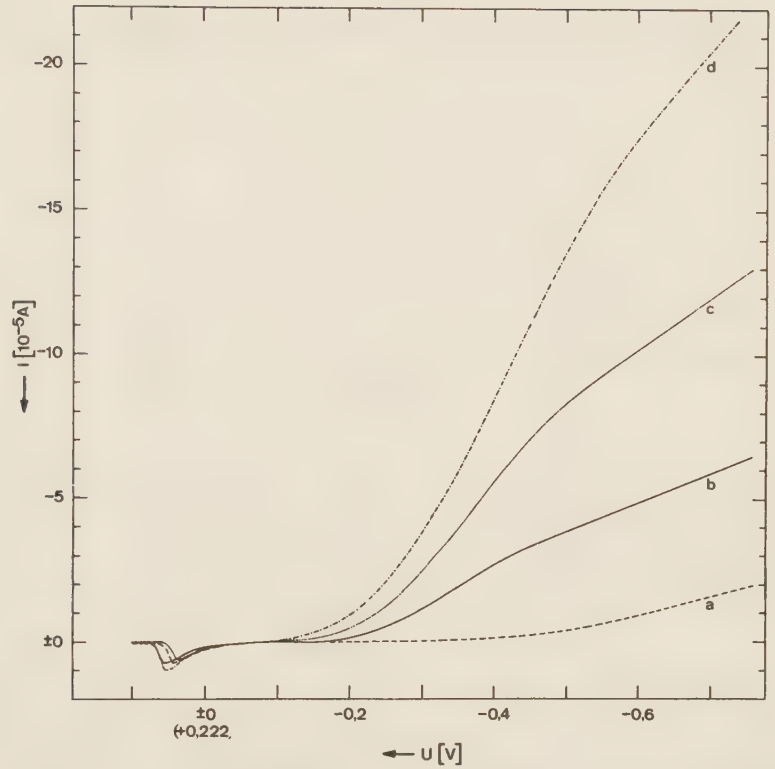

Abb. 12: O_2-Stufen bei verschiedenen Partialdrücken. Metrohm-Meßgefäß; 1 m KCl-Lösung; 30 °C; Dämpfung 5; Die Spannungsangabe in Klammern gibt das Potential der Silberchlorid-Elektrode gegen die Normalwasserstoff-Elektrode an. a: 0 mm Hg; b: 76 mm Hg; c: 190 mm Hg; d: 380 mm Hg.

Abb. 13 zeigt die O_2-Stufe in einer Algensuspension.

Für die Aufnahme der Zeit-Stromstärke-Kurven (s. unten) wurde die Spannung zu Beginn des Grenzstroms fest eingestellt. Der Einfluß der kathodischen Wasserstoff-Abscheidung ist hier am geringsten. Weitere Versuche zeigten, daß die Lage der O_2-Stufe auf der Spannungsskala von der Zusammensetzung der Meßlösung abhängt. Daher muß für Suspensionen verschiedener Zusammensetzung die optimale Spannung für die Zeit-Stromstärke-Kurven jeweils bestimmt werden.

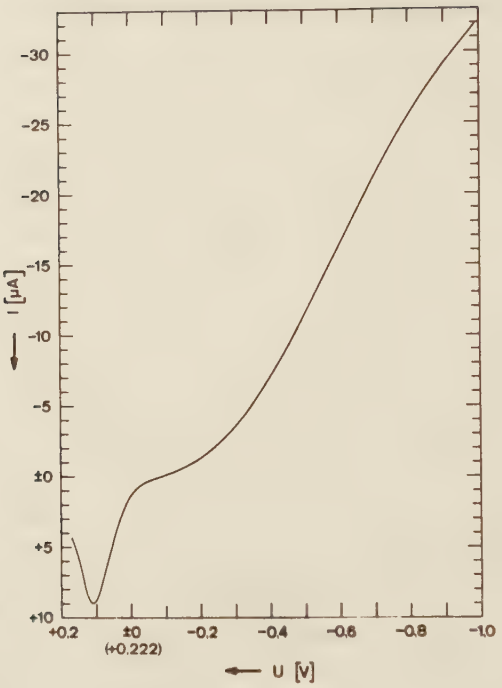

Abb. 13: In einer Algensuspension gemessene O_2-Stufe. Spezialmeßgefäß; Autosporen in Chlorella-Nährlösung (RZZ 500); 30 °C; Dämpfung 5; zu Versuchsbeginn begast mit 4,5 % O_2, 3 % CO_2 und 92,5 % N_2. Die Spannungsangabe in Klammern gibt das Potential der Silberchlorid-Elektrode gegen die Normalwasserstoff-Elektrode an.

D. Zeit-Stromstärke-Kurven

Abb. 14 zeigt eine Zeit-Stromstärke-Kurve bei konstanter Spannung (-0,6 V), gemessen in einer Chlorella-Suspension mit Licht-Dunkel-Wechsel.

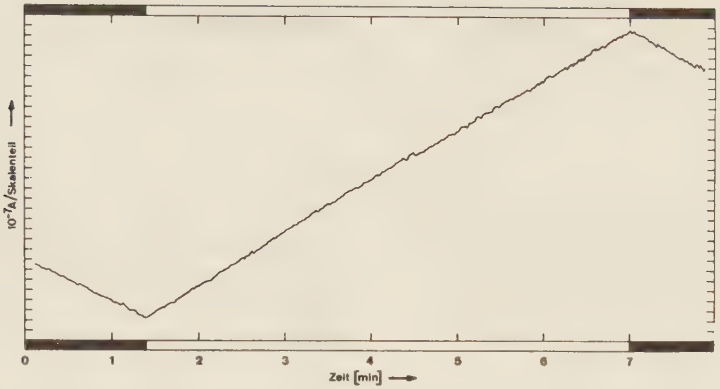

Abb. 14: Beispiel einer Zeit-Stromstärke-Kurve einer Algen-Suspension.
Spezialmeßgefäß; Autosporen in Chlorella-Nährlösung (RZZ 1000); 30 °C; bei Versuchsbeginn begast mit 3 % O_2, 2 % CO_2 und 95 % N_2; -0,6 V; monochromatisches Licht: 676 nm (5050 erg·cm^{-2}.sec^{-1}); Dunkelphasen schwarz markiert.

Wie erwartet zeigt die Kurve eine durch die Dunkelatmung verursachte O_2-Abnahme und im Licht eine apparente O_2-Produktion. Das bedeutet, daß bei dieser Lichtintensität die O_2-Produktion durch die Photosynthese größer ist als die Sauerstoffaufnahme durch die Lichtatmung. Deutliche Induktionserscheinungen lassen sich allerdings nicht erkennen, weil die Intensität des Lichtes nicht ausreichte.

E. Ableitung der Zeit-Stromstärke-Kurven

Abb. 15 zeigt die Induktion von Photosynthese und Dunkelatmung und die elektronische Ableitung dieser Kurve.

Durch die Differenzierung wird die Empfindlichkeit der Messung stark erniedrigt; außerdem läßt sich $(\frac{dI}{dt})$ nicht in absoluten Maßeinheiten abgeben. Die abgeleitete Kurve kann daher nur zum qualitativen Vergleich der Induktionserschei-

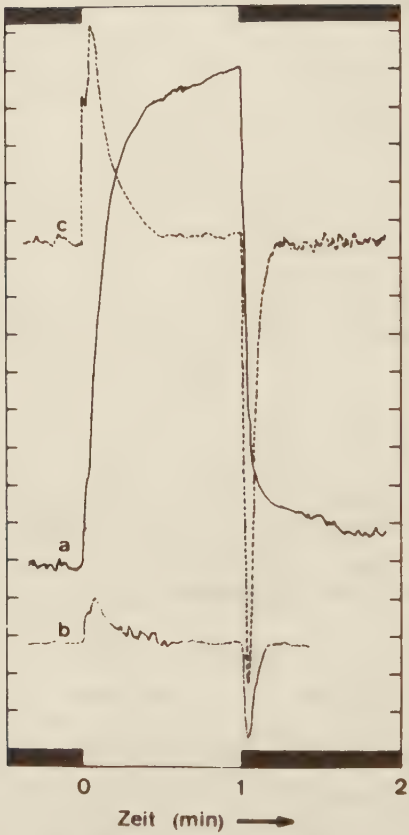

Abb. 15: Beispiel einer Zeit-Stromstärke-Kurve und ihrer elektronischen Ableitung.
Spezialmeßgefäß; Autosporen in Chlorella-Nährlösung (RZZ 550), die nach der Ernte am Ende der Dunkelzeit im Dunkeln verdünnt und dann 60 Stunden lang im Dunkeln bei 30 °C und Begasung mit Luft-CO_2-Gemisch (97:3) aufbewahrt worden waren. 17 Stunden lang wurde dann im Meßgefäß die Änderung des O_2-Partialdrucks verfolgt bis ein Licht-Dunkel-Wechselprogramm gegeben wurde. 30°C; - 0,6 V; Dämpfung 5; Weißlicht 70 000 erg·cm^{-2}·sec^{-1}. Jede Kurve bringt einen der Licht-Dunkel-Wechsel. Dunkelphasen sind schwarz gekennzeichnet. a: Normalkurve (Ordi-

nate: Stromstärke in 0,5 µA pro Skalenteil); b: abgeleitete Kurve ($\frac{dI}{dt}$) mit gleicher Empfindlichkeitseinstellung. c: abgeleitete Kurve ($\frac{dI}{dt}$) mit Einstellung fünffacher Empfindlichkeit.

nungen dienen. Zu berücksichtigen bleibt allerdings, daß diese bei schnell verlaufenden Vorgängen nur verzerrt wiedergegeben werden. Zuverlässige Ergebnisse liefert dagegen die graphische Ableitung der Originalkurve. Aus diesem Grunde wurde in der vorliegenden Arbeit die Methode der graphischen Differenzierung gewählt.

F. Versuche mit der rotierenden Graphit-Elektrode

Um die Eignung der rotierenden Graphit-Elektrode für biologische O_2-Messungen zu testen, wurden mit ihr einige Vorversuche ausgeführt. Die Abb. 16 zeigt die Sauerstoffstufe und Abb. 17 eine Zeit-Stromstärke-Kurve.

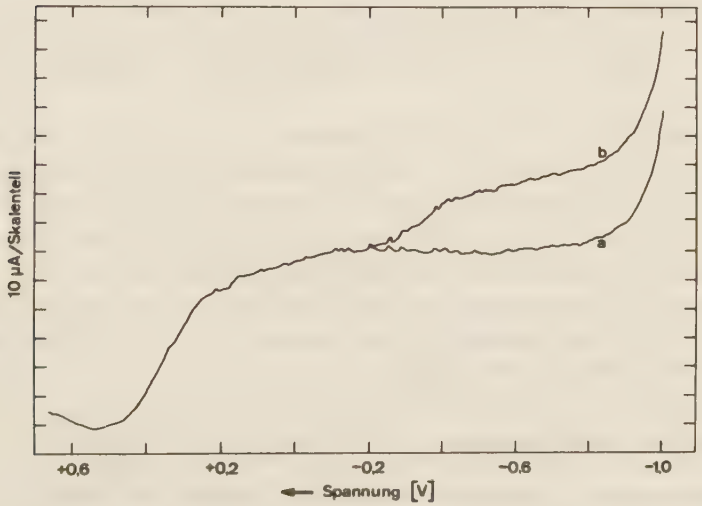

Abb. 16: Mit der rotierenden Graphit-Elektrode erhaltene O_2-Stufe.
Metrohm-Meßgefäß; 0,2 m KCl-Lösung; 25 °C; Dämpfung

5; a: 0,2 m KCl-Lösung mit Reinst-N_2 begast; b: zu mit Reinst-N_2 begaster 0,2 m KCl-Lösung eine kleine Menge luftgesättigte 0,2 m KCl-Lösung gegeben.

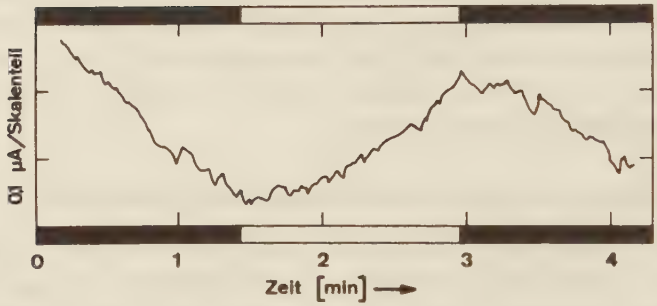

Abb. 17: Mit der rotierenden Graphit-Elektrode erhaltene Zeit-Stromstärke-Kurve, gemessen in einer Algen-Suspension.
Metrohm-Meßgefäß; Dauerlichtkultur von Chlorella pyrenoidosa in Phosphatpuffer (pH 7); 25 °C; bei Versuchsbeginn begast mit Reinst-N_2; -0,6 V; schwaches Weißlicht; Dunkelphasen schwarz markiert.

Die Kurve der Abb. 17 läßt erkennen, daß die Zeit bis zum Vollausschlag ungefähr 1 Minute beträgt und damit beträchtlich länger ist als bei der rotierenden Pt-Elektrode. Damit erscheint die Graphit-Elektrode für Photosynthese- und Atmungsmessungen weniger geeignet. Da aber im Platin ein geeigneteres Elektrodenmaterial zur Verfügung stand, wurden keine besonderen Anstrengungen unternommen, die Graphit-Elektrode durch besondere Vorkehrungen zu verbessern.

G. Eichung des Systems

Da einerseits Spannungs-Stromstärke-Kurven und andererseits Zeit-Stromstärke-Kurven zu schreiben waren, mußten die erforderlichen Eichkurven auf zwei verschiedenen Wegen gewonnen werden. Bei Spannungs-Stromstärke-Kurven wurden die O_2-

Stufen bei verschiedenen Partialdrücken wie in der Voltammetrie üblich gemessen (vgl. z.B. MEITES 1965) (Abb. 18), bei den Zeit-Stromstärke-Kurven dagegen wurde der O_2-Partialdruck bei konstanter Spannung zwischen dem Wert 0 mm Hg O_2 und dem Wert des zu messenden O_2-Partialdrucks gewechselt (Abb. 19).

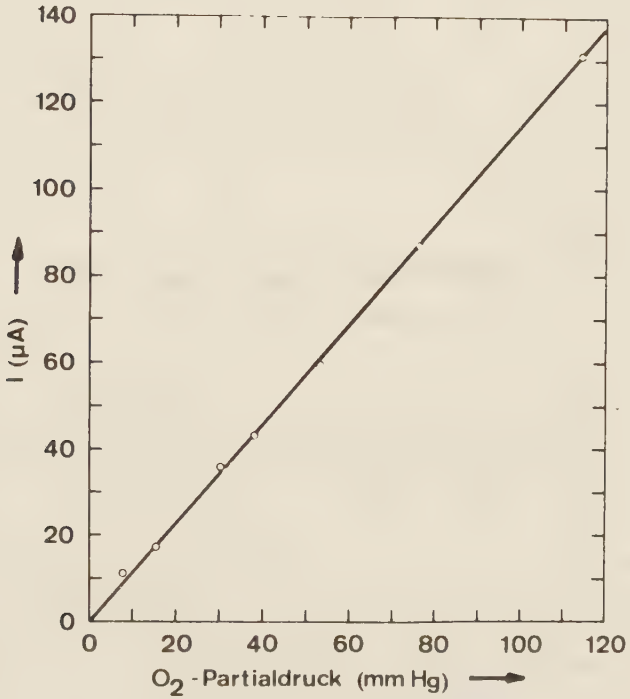

Abb. 18: Beispiel einer aus Spannungs-Stromstärke-Kurven ermittelten Eichkurve.
Metrohm-Meßgefäß; 1 m KCl-Lösung; 30 °C; Spannungsbereich: -0,75 bis +0,25 V; Dämpfung 5; Spannungsvorschub 1/3 Volt/min.

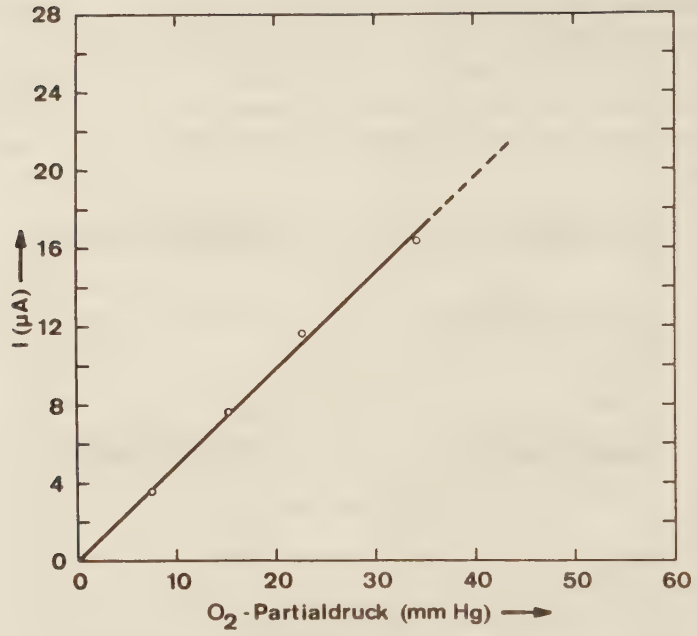

Abb. 19: Beispiel einer aus Zeit-Stromstärke-Kurven ermittelten Eichkurve.
Spezialmeßgefäß; Autosporen (RZZ 550); 30 °C; -0,8 V; Dämpfung 5; monochromatisches Licht 676 nm: 3800 erg.cm^{-2}.sec^{-1}.

Bei den aus Zeit-Stromstärke-Kurven ermittelten Eichkurven wurde jeweils so viel monochromatisches Licht der Wellenlänge 676 nm eingestrahlt, daß sich die Algen gerade im Kompensationspunkt von Photosynthese und Lichtatmung befanden. Dadurch konnten Verfälschungen der Eichkurve durch die Atmung der Algen weitgehend ausgeschlossen werden. Es erwies sich aber als notwendig, das Eichprogramm in umgekehrter Reihenfolge zu wiederholen. Folgendes Eichprogramm wurde bei der Aufstellung genauer Eichkurven durchgeführt: 0 % - 7 % - 0 % - 2 % - 0 % - 4,5 % - 0 % - 3 % - 0 % - 1 % - 0 % - 7 % -

0 % - 1 % - 0 % - 3 % - 0 % - 4,5 % - 0 % - 2 % - 0 % - 7 % - 0 % O_2 mit 3 % CO_2 im Eichgas.

Die Aufnahme eines einzigen Wertepaares dauerte etwa 35 min, so daß in der Regel nur 2 ausgewählte Meßpunkte geprüft werden konnten. Auf die Aufnahme vollständigerer Folgen von Meßpunkten konnte verzichtet werden, nachdem sich gezeigt hatte, daß alle Eichkurven durch den Nullpunkt gehen.

H. Prüfung der Synchronisation der verwendeten Algensuspensionen

Abb. 20 zeigt die Veränderungen der Zelldichte der verwendeten Chlorella-Massenkultur während eines Licht-Dunkel-Wechsels (14 h Licht und 10 h Dunkel). Die Kurve, die in

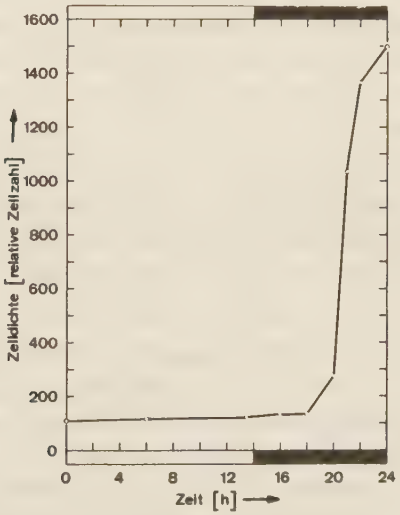

Abb. 20: Beispiel eines Synchroncyclus.
30 °C; 10 000 Lux; Dauerbegasung mit Luft-CO_2-Gemisch (97:3); Licht-Dunkel-Wechsel: 14 h Licht und 10 h Dunkel; Dunkelphase schwarz markiert.

dieser Form immer wieder erhalten wurde, zeigt, daß die Synchronisationsschärfe der Synchronkulturen völlig ausreichte, was eine mikroskopische Beobachtung bestätigte.

HAUPTVERSUCHE

I. Induktionserscheinungen

Nach einem Übergang von Dunkel zu Licht und von Licht zu Dunkel zeigen Algen oft mehrere Minuten lang starke Schwankungen der O_2-Rate. Diese sog. Induktionserscheinungen von Photosynthese und Atmung sind ungefähr nach 15 Minuten beendet. Erst danach wird mit Sicherheit die steady-state-Rate der Photosynthese oder der Dunkelatmung gemessen.

Die Induktionserscheinungen hängen sehr stark von den äußeren und inneren Bedingungen der Algen ab, z.B. von der Vorbehandlung, von der Lichtintensität, der Lichtqualität und der Zusammensetzung der Atmosphäre. Sie sind daher ein ausgezeichnetes Mittel, um an die Photosynthese geknüpfte Probleme zu klären.

Die Kurven werden aber leider oft durch die Anzeigeverzögerung des Meßsystems verzerrt. Daher ist es nicht einfach, die in der Literatur beschriebenen Induktionsphänomene miteinander zu vergleichen und sie zu deuten.

Es hat sich gezeigt, daß die Induktionserscheinungen nur bei genügend hoher Lichtintensität deutlich werden (BRIANTAIS 1963, JOLIOT 1961 und VIDAVER and CHANDLER 1969). So zeigt z.B. Abb. 12 (vgl. Abschnitt C), die mit monochromatischem Licht (676 nm) von 5050 $erg \cdot cm^{-2} \cdot sec^{-1}$ erhalten wurde, eine Induktionserscheinung in Form einer nur leichten Änderung der O_2-Abgaberate nach Beginn einer Lichtperiode. Deutliche Induktionserscheinungen konnten dagegen bei Versuchen mit Weißlicht gewonnen werden. Die Abbildungen 21 und 22 zeigen ein Beispiel.

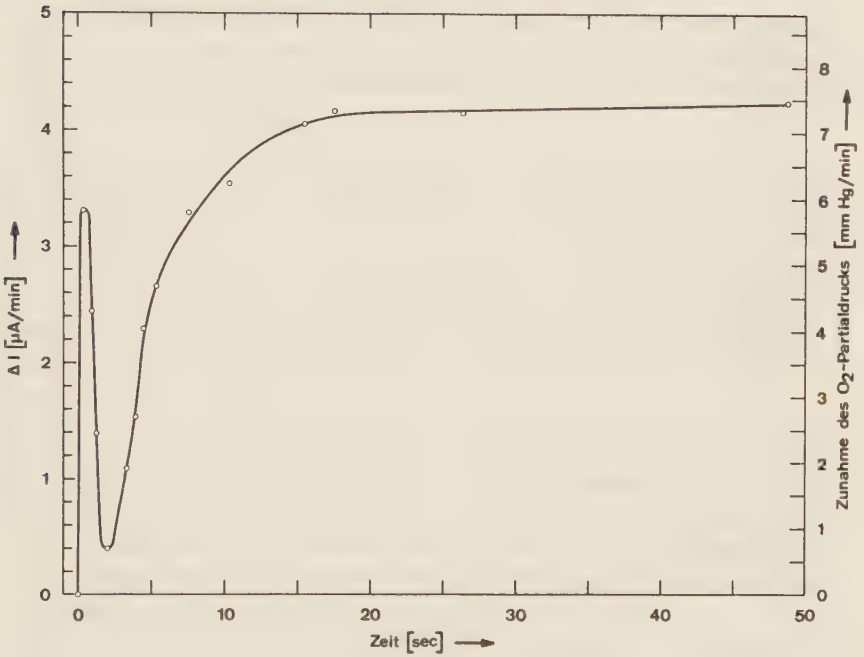

Abb. 21: Induktionserscheinungen nach dem Übergang von Dunkelheit zu Licht.
Die Veränderung des O_2-Partialdrucks wurde graphisch aus der Kurve des O_2-Partialdrucks ermittelt. Spezialmeßgefäß; Autosporen (RZZ 488); 30 °C; bei Versuchsbeginn begast mit 4,5 % O_2, 3 % CO_2 und 92,5 % N_2; -0,8 V; Weißlicht 70 000 erg·cm^{-2}·sec^{-1}.

Die Präparation der Autosporensuspension für die Abbildungen 21 und 22 erfolgte auf die in Abschnitt A der Methodik beschriebene Weise. Nach Einstellung der Zellzahl (RZZ 488) wurden die Autosporen 22 Stunden bei +4 °C und Dunkelheit aufbewahrt. Die Messung begann mit einer Begasung der Algensuspension im Meßgefäß mit 4,5 % O_2, 3 % CO_2 und 92,5 % N_2 von 10 Minuten Dauer. Danach unterwarf man sie einem Licht-Dunkel-Wechsel. In den Lichtperioden wurde Weißlicht der Intensität 70 000 erg·cm^{-2}·sec^{-1} in die Suspension eingestrahlt. Bei einem der Übergänge von Dunkel zu Licht, bzw. von Licht zu Dunkel erfolgte dann eine sorgfältige Bestimmung der ersten Ableitung als Maß für die O_2-Rate. Abb. 21

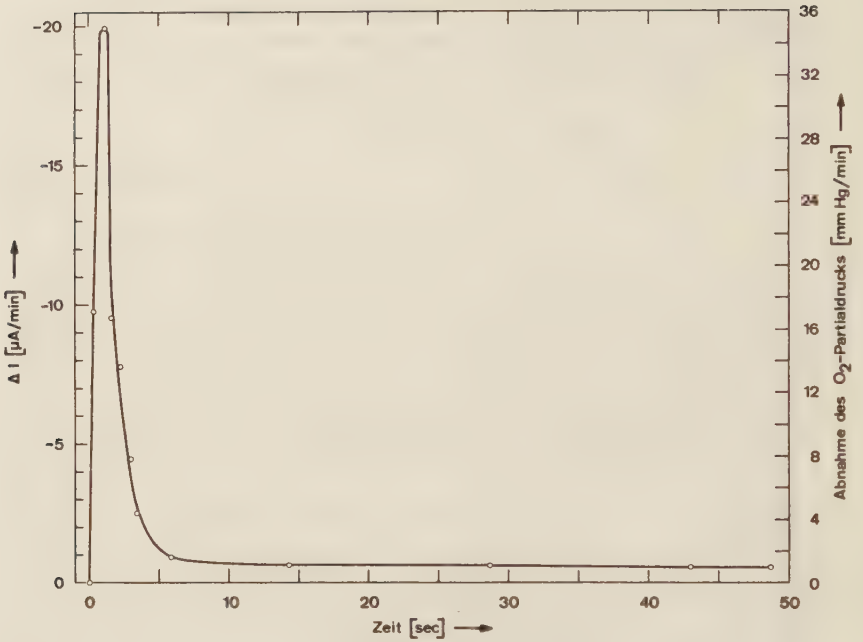

Abb. 22: Induktionserscheinung nach dem Übergang von Licht zu Dunkelheit.
Die Veränderung des O_2-Partialdrucks wurde graphisch aus der Kurve des O_2- Partialdrucks ermittelt. Spezialmeßgefäß; Autosporen (RZZ 488); 30 °C; bei Versuchsbeginn begast mit 4,5 % O_2, 3 % CO_2 und 92,5 % N_2; -0,8 V; Weißlicht 70 000 erg·cm^{-2}·sec^{-1}.

zeigt die Induktionserscheinungen nach Lichtbeginn und Abb. 22 nach Dunkelbeginn.

Beim Übergang von Dunkelheit zu Licht nach 10 Minuten Dunkel (Abb. 21) zeigt sich in der ersten Sekunde nach Lichtbeginn ein deutlicher O_2-Ausstoß, der schon mehrfach beschrieben worden ist (JOLIOT 1961, VIDAVER and CHANDLER 1964, JOLIOT 1965a, 1965b, EGNEUS 1967, JOLIOT and JOLIOT 1968, RIED 1968, 1969, VIDAVER and CHANDLER 1969). Die O_2-Menge, die während dieses Ausstoßes freigesetzt wird, ist nach JOLIOT 1961 der Menge an aktivem photochemischem Substrat des Photosystems II proportional. Dies kann für die Aufstellung eines Aktionsspektrums des Photosystems II verwendet werden (JOLIOT

1965, RIED 1969). Dieser augenblickliche O_2-Ausstoß dauert nur ca. 1,5 Sekunden. Die O_2-Abgabe geht danach fast bis Null zurück und nimmt darauf wieder stark zu, bis ein steady-state erreicht ist.

Abb. 22 zeigt die Veränderung des O_2-Partialdruckes beim Übergang von Licht zu Dunkelheit nach 70 Sekunden Licht. Hier findet man in den ersten zwei Sekunden eine sehr starke O_2-Aufnahme, die relativ langsam zurückgeht. Möglicherweise verbirgt sich in der Kurve der abfallenden O_2-Aufnahme ein kleines Maximum als Schulter. Nach Abschluß der anfänglichen starken O_2-Aufnahme strebt diese dem steady-state-Zustand zu.

Besonders ausgeprägt sind die Induktionserscheinungen, wenn im Medium der Sauerstoff fehlt. In der Anaerobiose ist die Zahl der zu unterscheidenden Induktionsphasen erhöht und die Dauer der einzelnen Phasen verlängert. Hier kommt es sogar nach dem Ende des anfänglichen O_2-Ausstoßes zu einer O_2-Aufnahme im Licht (vgl. EGNEUS 1967).

Eine interessante Induktionserscheinung ist in Abbildung 15 (vgl. Abschnitt E) wiedergegeben. Hier waren die Algen nach dem Einstellen der Zellzahl wieder zurück in den Lichtthermostaten gebracht und bei 30 °C und bei Begasung mit Luft-CO_2-Gemisch (97:3) 60 Stunden lang im Dunkeln aufbewahrt worden. Die O_2-Messung im Spezialmeßgefäß begann mit einer 10 Minuten dauernden Begasung mit 4,5 % O_2, 3 % CO_2 und 92,5 % N_2. Dann wurde 17 Stunden lang der O_2-Partialdruck verfolgt, bis ein Licht-Dunkel-Wechsel gegeben wurde. Das Ausmaß der Induktionserscheinungen nach Lichtbeginn und nach Dunkelbeginn ist unerwartet groß, verglichen mit den (in der Abbildung nicht gezeigten) steady-state-Raten. Möglicherweise läßt sich diese Erscheinung dazu benutzen, die Phänomene der Entwicklung von Chlorella-Zellen weiter zu klären.

In den ersten Sekunden nach einem Licht-Dunkel-Wechsel lassen sich also die Induktionserscheinungen mit der verwendeten O_2-Meßapparatur deutlich zeigen. Hier ist die Methode

der Messung im geschlossenen System mit der rotierenden Pt-Elektrode der Methode der Messung in Durchflußanordnung insofern überlegen, als die zeitliche Auflösung besser ist und sich die umgesetzten O_2-Mengen auch quantitativ bestimmen lassen. Dagegen zeigen die längerfristigen Induktionserscheinungen die Grenzen der verwendeten Methode. Es lassen sich dann nämlich die Induktionserscheinungen nicht mehr sicher von Änderungen der O_2-Rate unterscheiden, die infolge unterschiedlicher O_2- oder CO_2-Konzentration während der Messung auftreten.

K. Emerson-Effekt

Mit dem verwendeten Meßsystem läßt sich auch der sog. "2. Emerson-Effekt" (EMERSON, CHALMERS and CEDERSTRAND 1957, BANNISTER and VROOMAN 1964 und MYERS and GRAHAM 1963b) nachweisen. Man versteht darunter die nicht-additive Wirkung verschiedener Wellenlängenbereiche, die letztlich dazu führt, daß die Beimengung geringer Intensitäten von Strahlung unterhalb 684 nm eine erhebliche Steigerung der Photosyntheserate im längerwelligen Licht ergibt. Dieser Effekt ist schon im einzelnen untersucht worden (EMERSON, CHALMERS and CEDERSTRAND 1957, BISHOP and WHITTINGHAM 1960, GOVINDJEE and RABINOWITCH 1960, 1961, MYERS and FRENCH 1960, MYERS and GRAHAM 1963b, BANNISTER and VROOMAN 1964, JONES and MYERS 1964, KOUCHKOVSKY 1964, GOVINDJEE and GOVINDJEE 1965, KOUCHKOVSKY 1965, BEDELL and GOVINDJEE 1966). Sein eingehendes Studium erübrigte sich daher. Er wurde nur ausgemessen, um die prinzipielle Brauchbarkeit der entwickelten Meßapparatur auch für diesen Zweck zu demonstrieren:

Chlorella pyrenoidosa-Zellen aus einer Dauerlichtkultur (RZZ ca. 1000); bei Versuchsbeginn begast mit 7 % O_2, 3 % CO_2 und 90 % N_2; kurzwelliges monochromatisches Licht: 650 nm (750 $erg \cdot cm^{-2} \cdot sec^{-1}$); langwelliges monochromatisches Licht: 703 nm (10 800 $erg \cdot cm^{-2} \cdot sec^{-1}$ +).

+) Diese relativ hohe Lichtintensität wurde mit der anfänglich verwendeten Ellipsoid-Reflektorlampe erzielt, die im Dunkelrot höhere Ausbeuten liefert als die Halogen-Spiegellampe.

Folgende Photosyntheseraten (in relativen Einheiten) wurden gemessen:

650 nm:	0,39 ± 0,01
703 nm:	0,90 ± 0,01
650 nm + 703 nm (gleichzeitig angestrahlt):	1,41 ± 0,01

Berechnung des "enhancement" des Photosyntheseumsatzes:

$$\frac{(650\ \text{nm} + 703\ \text{nm}) - 650\ \text{nm}}{703\ \text{nm}} = 1{,}13$$

$$\frac{(650\ \text{nm} + 703\ \text{nm}) - 703\ \text{nm}}{650\ \text{nm}} = 1{,}31$$

$$\frac{(650\ \text{nm} + 703\ \text{nm})}{650\ \text{nm} + 703\ \text{nm}} = 1{,}09$$

L. Aktionsspektrum der Photosynthese

a: Einleitung

Eine sorgfältige Demonstration der Leistungsfähigkeit der O_2-Meßapparatur wurde durch die Aufnahme zweier Aktionsspektren der Photosythese erbracht. Da bisher nur wenige verläßliche Aktionsspektren zur Verfügung stehen, erschien die Bestimmung eines solchen Spektrums von vornherein als ein ebenso wichtiger wie lohnender Test. In Vorversuchen wurde zunächst bestimmt, welche Strahlungsenergien in den einzelnen Wellenlängen überhaupt verfügbar waren (siehe Abschnitt F der Methodik). Dabei erwies sich, daß nur ein Wirkungsspektrum mit energiegleichem Licht aufgestellt werden konnte; denn die Strahlungsenergie im kurzwelligen Spektralbereich war nur gering. Auf der kurzwelligen Seite wurden die Aktionsspektren daher durch 497 nm, auf der langwelligen Seite durch 728 nm begrenzt. Innerhalb dieses Bereiches ließ sich eine gut meßbare Sauerstoffentwicklung erzielen.

b: Messung

Bei der Aufstellung des Aktionsspektrums wurde folgendermassen vorgegangen: Zunächst achtete man darauf, daß keine Filter mit benachbarten Wellenlängen direkt nacheinander verwendet wurden. Mit jeder Probe ließen sich jeweils nur 3 - oder höchstens 4 - Meßpunkte aufnehmen, weil nach 10 Stunden Aufbewahrung bei $+4^{\circ}C$ und Dunkelheit nicht mehr mit dem gleichen Zellmaterial zu rechnen ist.

Das Beleuchtungssystem wurde für die ausgewählten 3 bis 4 Wellenlängen auf gleiche Energieausstrahlung eingestellt. Zur Erzielung monochromatischen Lichtes fanden die in Abschnitt F der Methodik aufgeführten Interferenzfilter Verwendung.

Die Messungen der Strahlungsenergie (vgl. Abschnitt G der Methodik) erfolgten sowohl mit wassergefülltem als auch ohne Meßgefäß. Damit wurde die Lichtabsorption durch die im Strahlengang liegenden Glasplatten von Temperiermantel und Küvette berücksichtigt, bestimmt wurde die Lampenspannung, die notwendig war, um einen gewünschten Ausschlag des mit der Thermosäule verbundenen Galvanometers zu erzielen. Der Ausschlag von 6 Skalenteilen entsprach - nach Angaben der Herstellerfirmen von Thermosäule und Galvanometer - 5050 $erg \cdot cm^{-2} \cdot sec^{-1}$. Die Bestimmung der Lampenspannung erfolgte vier- bis sechsmal, je nachdem wie die Meßwerte streuten. Dabei ergaben sich verhältnismäßig geringe Abweichungen, so z.B. für 497 nm: 14,55 V, 14,65 V, 14,8 V, 14,6 V, 14,6 V, 14,75 V und 14,6 V.

Für den eigentlichen O_2-Meßversuch beschickte man das Meßgefäß - unter grünem Sicherheitslicht - mit etwa 40 ml Autosporen-Suspension, die nach dem in Abschnitt A der Methodik beschriebenen Verfahren gewonnen war. Ein Überstand von etwa 16 ml verblieb im Zugabetrichter. Dann wurde die Suspension innerhalb der Meßzelle 10 Minuten lang mit einem Gemisch aus 3 % O_2, 2 % CO_2, und 95 % N_2 für das Wirkungsspektrum mit 6-Minuten-Perioden und mit einem Gemisch aus 4,5 % O_2, 3 % CO_2 und 92,5 % N_2 für das Wirkungsspektrum mit 16-Minuten-Perioden (315 ml/min) begast.

Die Messung begann unmittelbar anschließend mit einer Dunkelphase. Für jeden Meßpunkt des Wirkungsspektrums bestand das Programm in einem Wechsel zwischen 5 Dunkel- und 4 Lichtperioden. Abb. 12 (vgl. Abschnitt C) zeigt einen Ausschnitt aus einer Originalkurve.

Während beim ersten Wirkungsspektrum jede Lichtzeit 6 Minuten dauerte, wurde für jede Lichtzeit im zweiten Wirkungsspektrum 16 Minuten Dauer gewählt, um alle Induktionserscheinungen abklingen zu lassen. Nach Möglichkeit sollte dann auch die Dunkelzeit 16 Minuten dauern. Das ist jedoch nur möglich, wenn die Photosyntheserate gerade doppelt so groß ist wie die Atmungsrate, weil jeder Licht-Dunkel-Wechsel mit der gleichen O_2- und CO_2-Konzentration beginnen sollte. Ist die Photosyntheserate höher, so bedarf es der Einschaltung längerer Dunkelzeiten; anderenfalls würde man die ursprüngliche Sauerstoffkonzentration nicht wieder erreichen. Lag dagegen - bei Einsatz monochromatischer Strahlung - die Photosynthese niedriger, so wurden in regelmäßigen Abständen Weißlicht-Perioden eingeschaltet, um auf diese Weise zusätzlich O_2 bereitzustellen.

Nachdem für jede Probe die gewünschten Meßpunkte bestimmt waren, wurde noch eine Eichkurve aufgestellt nach dem in Abschnitt G beschriebenen Verfahren.

c: Die Auswertung

Die Messungen bringen Stromstärkekurven in Abhängigkeit von der Zeit. Die Stromstärke ist dem O_2-Partialdruck proportional. Um die O_2-Austauschraten zu erhalten, mußten zunächst die Steigungen der Kurve graphisch bestimmt werden. Die Steigungen sind der jeweiligen Geschwindigkeit der O_2-Aufnahme bzw. O_2-Abnahme proportional und damit dem Sauerstoffumsatz. Man erhält während der Lichtperioden Werte, die der apparenten Photosynthese, und während der Dunkelperioden Werte, die der Dunkelatmung proportional sind.

Apparente Photosynthese bedeutet, daß in die O_2-Bilanz Photosynthese und Lichtatmung eingehen. Um die wahre Photosyntheserate zu erhalten, ist es üblich, von der apparenten Photo-

synthese die Werte der Dunkelatmung vor oder nach der Lichtperiode abzuziehen. Dabei wird angenommen, daß die Rate der Lichtatmung gleich der Rate der Dunkelatmung ist. Nach diesem Verfahren mußte vorgegangen werden, weil die Messung der Lichtatmung unabhängig von der Photosynthese nur mit großem apparativen Aufwand durchzuführen ist.

Für die Auswertung des Wirkungsspektrums mit 6-Minuten-Perioden wurde für folgende Kurvenpunkte die Steigung bestimmt: Für die Dunkelatmung 5 Minuten nach Abschluß der Lichtzeit, für die apparente Photosynthese 5 Minuten nach Beginn der Belichtung. Für die Auswertung des Wirkungsspektrums mit 16-Minuten-Perioden wurde für folgende Kurvenpunkte die Steigung bestimmt: Für die Dunkelatmung unmittelbar vor Beginn der Lichtperiode und 15 Minuten nach ihrem Abschluß, wobei als Maß für die Atmung während des Lichtmeßpunktes das arithmetische Mittel der beiden Dunkelatmungswerte galt, und für die apparente Photosynthese 15 Minuten nach Lichtbeginn.

Die Steigungen während der Dunkelperiode wurden dann von den Steigungen während der Lichtperioden abgezogen, um die Steigungen der wirklichen Photosynthese zu erhalten. Damit stand für jede Wellenlänge eine Reihe von Werten zur Verfügung. Diese Werte waren z.B. für 497 nm: 0,101, 0,111, 0,103, 0,073, 0,083 und für 685 nm: 0,268, 0,250, 0,204, 0,246, 0,231. Die Werte wurden gemittelt.

Es folgte zur Aufbereitung des Materials eine Reihe von Rechengängen.

1. Korrektur der Zellzahl auf eine für alle Werte eines Spektrums geltende Zellzahl, denn bei der Einstellung der Zellzahl konnte es Abweichungen bis 10 % geben.
2. Umrechnung der Stromstärkeänderungen in Änderungen der entsprechenden O_2-Partialdrücke nach den ermittelten Eichkurven.
3. Umrechnung der Partialdruckänderungen in Änderungen der absoluten O_2-Konzentration nach Tabellenwerken (z.B.

HODGMAN, WEAST and SELBY 1957). Dabei wurde angenommen, daß sich bei Begasung mit 4,5 % O_2 (bei 30 °C) in jedem ml der Algensuspension 1,6 µg O_2 lösen. Damit sind die Werte für ein Aktionsspektrum erhalten, bei dem gleiche Lichtenergien eingestrahlt sind.

Wirkungsspektrum mit 6-Minuten-Perioden:

Wellenlänge (nm)	O_2-Rate (10^{-9} m/min·ml)
497	1,12
551	0,53
615	1,17
630	1,15
649	1,88
676	2,75
694	1,83

Wirkungsspektrum mit 16-Minuten-Perioden:

Wellenlänge (nm)	O_2-Rate (10^{-9} m/min·ml)
497	0,69
509	0,48
551	0,30
551	0,25
615	0,69
649	1,26
676	1,75
685	1,63
694	1,16
728	0,09

Diese Werte wurden auf gleichen Quantenfluß umgerechnet.

Wirkungsspektrum mit 6-Minuten-Perioden:

Wellenlänge (nm)	O_2-Rate (10^{-3} m/E)
497	10,5
551	4,5
615	8,9
630	8,6
649	13,6
676	19,0
694	12,3

Wirkungsspektrum mit 16-Minuten-Perioden:

Wellenlänge (nm)	O_2-Rate (10^{-3} m/E)
497	6,6
509	4,4
551	2,6
551	2,2
615	5,3
649	9,2
676	12,3
685	11,3
694	7,9
728	0,6

Die Abb. 23 zeigt das Wirkungsspektrum mit 6-Minuten-Perioden und die Abbildung 24 das Wirkungsspektrum mit 16-Minuten-Perioden nach der Umrechnung auf quantengleiches Licht.

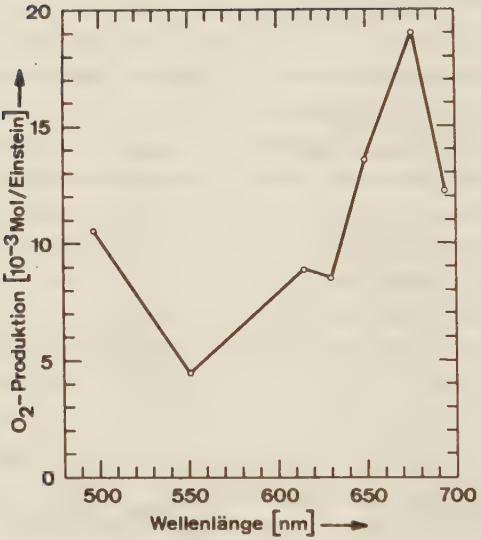

Abb. 23: Wirkungsspektrum der Photosynthese, erhalten mit 6-minütigen Lichtperioden.
Spezialmeßgefäß; Autosporen (RZZ 1000); 30 °C; begast mit 3 % O_2, 2 % CO_2 und 95 % N_2; monochromatisches Licht: 5050 erg·cm^{-2}·sec^{-1}; während der Messung angelegte Spannung: -0,6 V.

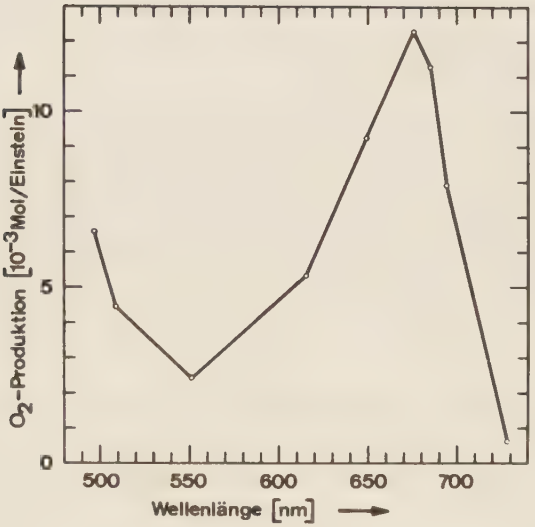

Abb. 24: Wirkungsspektrum der Photosynthese, erhalten mit 16-minütigen Lichtperioden. Spezialmeßgefäß; Autosporen (RZZ 500); 30 °C; begast mit 4,5 % O_2, 3 % CO_2 und 92,5 % N_2; monochromatisches Licht: 5050 erg·cm^{-2}·sec^{-1}; während der Messung angelegte Spannung: -0,7 V.

M. Ausscheidung eines Oxidationsmittels unter anaeroben Bedingungen

Es ist seit einigen Jahren bekannt, daß Algen einen Teil ihrer Zellinhaltsstoffe in das Medium ausscheiden können. Es war zu prüfen, ob die unmittelbar in das Medium eintauchende Platin-Elektrode durch derartige Ausscheidungsprodukte beeinflußt wird.

Die im Versuch eingesetzte Algensuspension wurde nach dem in Abschnitt A der Methodik beschriebenen Verfahren gewonnen. Diese Suspensionen (RZZ ca. 500) wurden dann für verschiedene Zeiten - maximal 2 1/2 Tage - bei einer Temperatur von 0 °C im Dunkeln aufbewahrt. Anschließend wurden sie in die Meßzelle gegeben und dort - unter grünem Sicherheits-

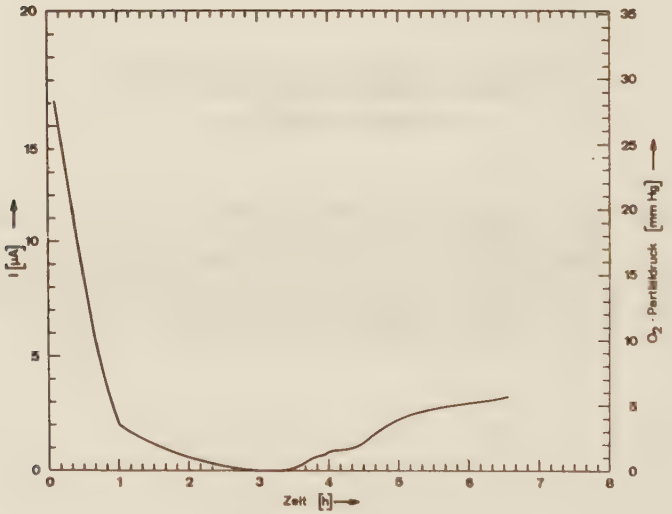

Abb. 25: Dunkelkurve einer Autosporensuspension. Spezialmeßgefäß; Autosporen (RZZ 500); 30 °C ; bei Versuchsbeginn (= 3 Stunden nach Ernte) begast mit 4,5 % O_2, 3 % CO_2 und 92,5 % N_2; -0,8 V; Dunkelheit während des gesamten Kurvenverlaufs.

licht - mit einer aus 4,5 % O_2, 3 % CO_2 und 92,5 % N_2 bestehenden Gasmischung durchströmt. Dabei nahm die Zellaufschwemmung sehr rasch die Versuchstemperatur (30 °C) an. Dann wurde das Sicherheitslicht abgeschaltet, so daß die Algen in völliger Dunkelheit verblieben und den in der Suspension vorhandenen Sauerstoff veratmen konnten.

Es wurde im Verlauf mehrerer Stunden eine Kurve erhalten, die in Abb. 25 als Beispiel abgebildet ist.

In Abb. 26 ist die graphische Ableitung der in Abb. 25 abgebildeten Kurve wiedergegeben.

Während der Abnahme der Atmungsrate konnten deutlich zwei Phasen unterschieden werden, die diskontinuierlich ineinander übergehen.

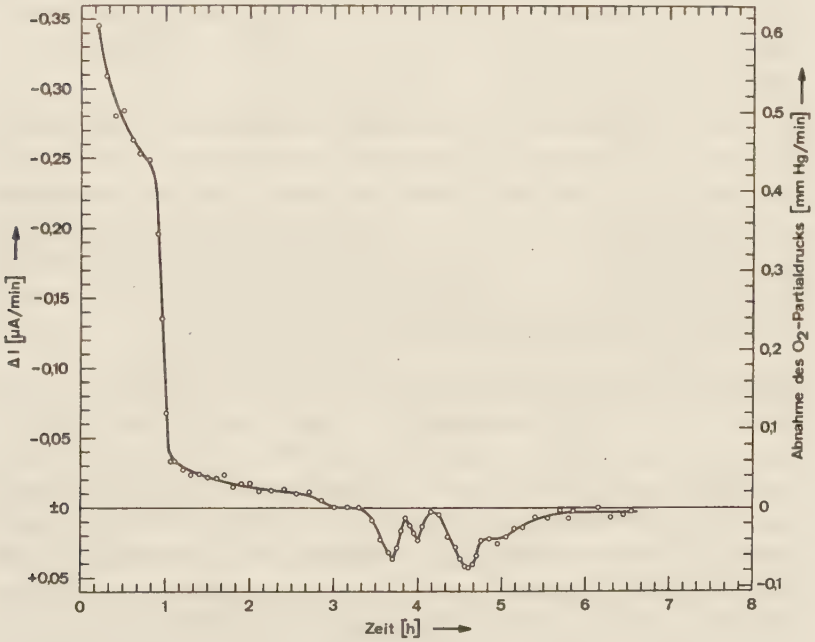

Abb. 26: 1. Ableitung der Dunkelkurve (Abb. 25) einer Autosporensuspension.
Spezialmeßgefäß; Autosporen (RZZ 500); 30 °C; bei Versuchsbeginn (= 3 Stunden nach Ernte) begast mit 4,5 % O_2, 3 % CO_2 und 92,5 % N_2; -0,8 V; Dunkelheit während des gesamten Kurvenverlaufs.

Phase 1: rasche Abnahme des O_2-Partialdrucks. Dabei geht die Geschwindigkeit der Sauerstoffaufnahme durch die Algenzellen immer weniger zurück.

Phase 2: langsame Abnahme des O_2-Partialdrucks. Dabei deutlich um ca. 90 % erniedrigte Sauerstoffaufnahme. Wie sich durch Kontrollmessungen (Abb. 27) eindeutig zeigen läßt, verschwindet während der Phase 2 der gesamte Sauerstoff aus der Suspension; am Ende dieses Zeitraums befinden sich die Algen demnach unter anaeroben Bedingungen.

Nachdem die Atmung durch Erreichen anaerober Bedingungen zum Stillstand gekommen war, blieb die Stromstärke zunächst auf einem konstanten Wert. Entgegen aller Erwartungen nahm sie nach höchstens 3/4 Stunden plötzlich wieder zu. Dieser Wiederanstieg erfolgte nicht kontinuierlich, sondern (vgl. Abb. 25) wellenförmig. Die Zunahme des Stromflusses deutet darauf hin, daß im Medium eine reduzierbare Substanz auftritt.

Um dieses unbekannte Oxidationsmittel näher zu charakterisieren, wurden zunächst Spannungs-Stromstärkekurven gemessen. Nach dem Stillstand der Atmung vor Auftreten des Oxidationsmittels im Medium ließ sich keine O_2-Stufe mehr nachweisen (Abb. 27). Tritt das Oxidationsmittel auf, so läßt sich auch wieder eine Stufe nachweisen, und zwar an der Stelle der O_2-Stufe auf der Spannungsskala (Abb. 27).

Spannungs-Stromstärkekurven zeigt Abbildung 28 nach dem Auftreten des Oxidationsmittels. Es findet sich eine deutliche Stufe mit einem Halbstufenpotential von ca. -350 mV. Wird die Spannungs-Stromstärkekurve anschließend sofort wiederholt, so finden sich zwei Stufen, eine mit einem Halbstufenpotential von ca. -400 mV, die andere von -700 mV. Das Auftreten dieser Doppelstufe konnte auch in anderen Versuchen bestätigt werden. Anschließend wurde die Suspension mit 3 % O_2, 3 % CO_2 und 92,5 % N_2 begast. Es ist jetzt keine besondere O_2-Stufe festzustellen; zwischen der O_2-Stufe und der Stufe des Oxidationsmittels konnte also nicht unterschieden

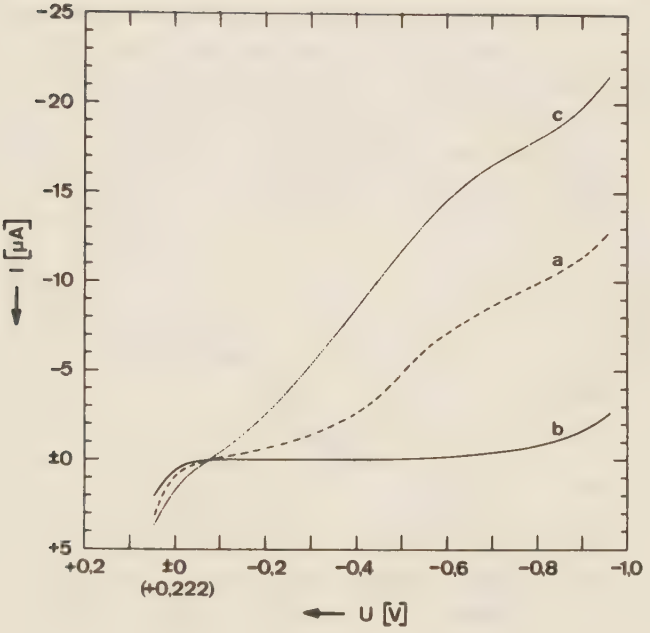

Abb. 27: Spannungs-Stromstärke-Kurven, die während eines Versuchs zur Ausscheidung eines Oxidationsmittels erhalten wurden.
Spezialmeßgefäß; Autosporen (RZZ 488 bei Kurve a, RZZ 556 bei Kurve b und c); 30 °C; bei Versuchsbeginn begast mit 4,5 % O_2, 3 % CO_2 und 92,5 % N_2; -0,8 V; a: unmittelbar nach Begasung zu Versuchsbeginn; b: nach Abschluß der Atmung; c: während des Auftretens des Oxidationsmittels.

werden. Man ist daher versucht, auf eine Sauerstoffausscheidung zu schließen. In dem Beispiel der Abb. 25 entspräche dies einer Zunahme des O_2-Partialdrucks von 0 auf 6 Torr.

Die Menge an Oxidationsmittel, die in der Suspension auftritt, scheint von der Zeit abzuhängen, die zwischen der Ernte der Algen und dem Versuchsbeginn verstreicht.

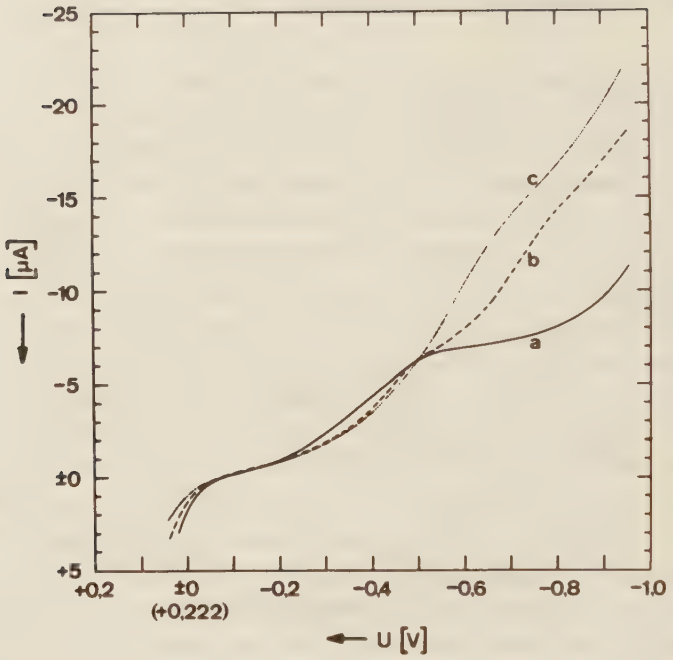

Abb. 28: Spannungs-Stromstärke-Kurven, die nach dem Auftreten eines Oxidationsmittels erhalten wurden. Spezialmeßgefäß; Autosporen (RZZ 488); 30 °C; bei Versuchsbeginn begast mit 4,5 % O_2, 3 % CO_2 und 92,5 % N_2; -0,8 V; a: nach Auftreten des Oxidationsmittels; b: sofortige Wiederholung von a; c: Nach 10-minütiger Begasung mit 3 % O_2, 3 % CO_2 und 94 % N_2 nach b.

Versuchsbeginn (h nach Ernte)	Menge an Oxidationsmittel (relative Einheiten
3	6
4	10
25	17
43	2
59	0

Die Fähigkeit der Algen zur normalen Atmung wird durch die Ausscheidung des unbekannten Oxidationsmittels nicht beeinflußt. Führt man ihnen von neuem Sauerstoff zu, so erreichen sie die ursprünglichen Atmungsraten wieder. Dabei zeigt sich auch wiederum der oben beschriebene Sprung in der Atmungsrate. Das Auftreten des Oxidationsmittels konnte dagegen nach 6 Stunden nicht mehr festgestellt werden.

IV. DISKUSSION

A. Das O_2-Meßsystem

Im Laufe der letzten Jahre haben voltametrische Sauerstoffmessungen in biologischen Systemen in zunehmendem Maße die manometrische O_2-Bestimmung ergänzt, teilweise sogar verdrängt. Ein universell anwendbares O_2-Meßsystem ist indessen nicht gefunden und dürfte auch kaum gefunden werden; dazu sind die experimentellen Anforderungen zu verschieden.

So hängt etwa die Meßanordnung wesentlich davon ab, ob man die Veränderung der O_2-Konzentration oder aber Schwankungen der O_2-Austauschrate messen will. Im ersten Falle muß man den Grenzstrom aufzeichnen, im zweiten Falle entweder diese Kurve differenzieren oder aber im Durchflußsystem messen. Bei voltametrischen Messungen ist daher sowohl die Auswahl eines geeigneten Elektrodensystems als auch des Meßgefäßes von der jeweiligen Fragestellung abhängig. In jedem Falle sollte die Elektrode eine Reihe von Minimalbedingungen erfüllen:

1. Hohe Empfindlichkeit. Die Höhe der Grenzströme ist praktisch nur über die Größe der Elektrodenoberfläche zu beeinflussen. Diese wiederum wird einerseits durch den Sauerstoffverbrauch der Elektrode selbst eingeschränkt, andererseits durch die Forderung, wonach die Gegenelektrode wesentlich größer als die Meßelektrode sein soll.

2. Kurze Ansprechzeit. Sie wird naturgemäß durch Einschaltung von Trennschichten zwischen Elektrode und Meßlösung erheblich verlängert.

3. Konstanz der Diffusionsschicht durch kontrollierte Relativbewegung zwischen Elektrode und Meßlösung.

Hinzu kommen noch besondere Forderungen an die Meßzelle. Sie sollte sich blasenfrei füllen und leicht temperieren

lassen. Außerdem sollte sie die Zugabe von Lösungen während der Messungen - und damit auch eine rasche Eichung - gestatten. Von den jeweiligen Versuchsbedingungen wird es abhängen, welchen der Forderungen ein Vorrang zukommt. Für photobiologische Messungen müssen insbesondere Gefäße entworfen werden, die eine gleichmäßige Belichtung des eingesetzten Versuchsmaterials gewährleisten.

Die bis heute verwendeten Edelmetall-Elektroden lassen sich in drei Grundtypen einteilen: Die einfachsten Elektroden sind blanke Pt-Elektroden, wie sie z.B. von HAXO und BLINKS 1950 benutzt wurden. Später bediente man sich zunehmend der membrangeschützten Elektroden nach CLARK, WOLF, GRANGER and TAYLOR 1953. Die rotierende Pt-Elektrode, die von KOLTHOFF und LAITINEN 1940 eingeführt worden ist, wurde dagegen sehr wenig verwendet.

Die voltametrische Messung mit Pt-Elektroden wurde von BLINKS und SKOW 1938 in die Biologie eingeführt. Die Autoren hatten seinerzeit den Gaswechsel von Algenthalli gemessen. Verbesserte Ausführungen wurden später zur Messung des Photosynthese-Aktionsspektrums verschiedener Meeresalgen eingesetzt (HAXO and BLINKS 1950). HAXO berichtete 1960 über solche Messungen mit einzelligen Algen.

CLARK, WOLF, GRANGER und TAYLOR führten 1953 die membranbedeckte Pt-Elektrode ein; sie wollten damit sicherstellen, daß die Platinoberfläche nur mit Sauerstoff, nicht aber mit möglichen Ausscheidungsprodukten der Versuchsobjekte reagiert. CARRITT und KANWISHER 1959 schützten auch die Gegenelektrode mit der Membran. Mit einer derartigen Einrichtung bestimmten McLEOD und KANWISHER 1962 den Quantenbedarf der Photosynthese im ultravioletten Bereich.

Dagegen ist die rotierende Pt-Elektrode in der Biologie nur vereinzelt eingesetzt worden. KOLTHOFF und LAITINEN beschrieben sie erstmals (KOLTHOFF and LAITINEN 1940, LAITINEN and KOLTHOFF 1941a, 1941b) und stellten fest, daß deren Grenz-

strom der O_2-Spannung des Mediums proportional ist. Doch erst MORGAN und NAHAS 1950 und GUALANDI 1953 benutzten eine derartige Elektrode zur Messung der O_2-Spannung in biologischen Systemen (vgl. auch WARSHOWSKY and SCHANTZ 1962).

Diese Grundtypen wurden zu den heute gebräuchlichen Elektroden weiterentwickelt. Als bedeutsame Neuerung wurde das Durchlaufsystem eingeführt (MYERS and GRAHAM 1963a, FORK 1962, 1963), mit dem bei einzelligen Algen und bei Chloroplasten-Suspensionen O_2-Austauschraten direkt gemessen werden können (vgl. auch ADLER 1967). VIDAVER 1964 entwickelte eine Meßapparatur mit Gas-Durchflußanordnung. Durch Kombination mit Glaselektroden wurde versucht, gleichzeitig die CO_2-Austauschrate zu messen (GINGRAS 1966). Für photobiologische Messungen wurden mehrere Küvettenkonstruktionen vorgeschlagen, die es gestatten, die Suspensionen gleichmäßig zu belichten. Das ist z.B. durch die Kombination eines Kapillarsystems mit Glasfaseroptik (ETIENNE 1968), durch geschickte Anordnung ringförmiger Elektroden innerhalb der Meßzellen (JOLIOT 1961, 1965a) oder durch rechteckige Meßküvetten (KOUCHKOVSKY 1963) erreicht worden.

Für Messungen im Millisekunden-Bereich haben JOLIOT und JOLIOT 1968 ein besonderes Meßsystem entwickelt. Hierbei liegen die isolierten Chloroplasten der blanken Platin-Elektrode auf; sie sind vom Elektrolyten, der einen Elektronenakzeptor (Hill-Reagenz) enthält, durch eine gasdurchlässige Membran getrennt. Durch passende Modulation des Lichts können sehr kurzfristige lichtbedingte Änderungen der O_2-Konzentration und der Konzentration des Hill-Reagenz in relativen Raten gemessen werden. Zwischen den Änderungen der O_2- und der Hill-Reagenz-Konzentration kann durch adäquate Spannungsvorgabe und durch Phasenverschiebung der Modulation unterschieden werden.

Die vorliegenden Messungen zeigen, daß zuverlässige Meßwerte auch mit einer blanken rotierenden Edelmetall-Elektrode zu erzielen sind.

Insbesondere zeigte die verwendete Platinelektrode über mehrere Tage hin eine gute Konstanz und kurze Ansprechzeit der O_2-Messung.

Die Anforderungen, die an ein Meßgefäß für photobiologische Messungen gestellt werden, konnten mit der Konstruktion des in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Gefäßes erfüllt werden, das so für solche Messungen besonders geeignet ist. In das Meßgefäß lassen sich gleichzeitig 2 Lichtbündel durch zwei verschiedene Fenster einstrahlen. Es läßt sich gut temperieren und blasenfrei füllen. Während der O_2-Messungen können Flüssigkeiten der Meßprobe zugesetzt werden. Schließlich sind Totvolumina bis auf wenige mm^3 vermieden.

Ein weiterer Vorzug der beschriebenen Meßapparatur ist es, daß die O_2-Partialdrücke durch eine Eichanlage absolut bestimmt werden können.

Das Bestrahlungssystem ermöglicht die Belichtung mit monochromatischem Licht und Intensitäten dieses Lichtes bis etwa 5000 $erg \cdot cm^{-2} \cdot sec^{-1}$.

Die Entwicklung der beschriebenen Meßanordnung ist als Vorarbeit für voltametrische Sauerstoffbestimmungen in Systemen zu verstehen, in denen mit Suspensionen schwerer Teilchen (einzellige Algen) gearbeitet wird, eine magnetische Rührung aber aus meßtechnischen Gründen vermieden werden muß.

B. Die Reststromcharakteristik

Die in Abb. 11 gezeigte Reststromcharakteristik in Abhängigkeit vom pH des Mediums läßt mehrere Kurventeile unterscheiden, wovon die im negativen Spannungsbereich für die O_2-Messungen besonders wichtig sind, weil sich dort die Sauerstoffstufe befindet.

Im negativen Spannungsbereich beginnt die Kurve mit der kathodischen Wasserstoff-Abscheidung, deren Mechanismus zum Beispiel bei KORTÜM 1962 und VETTER 1961 beschrieben ist. Die Kurven zeigen deutlich die Abhängigkeit der Wasserstoffüberspannung vom pH der Meßprobe. Zwischen dem Beginn der H_2-Abscheidung und dem Maximum zwischen 0 und +200 mV fließt fast kein Strom (sog. Plateau). Dies ist günstig für die O_2-Bestimmung, weil gerade in diesem Bereich die O_2-Stufe liegt (vgl. Abb. 12). Das Maximum zwischen 0 und +200 mV spiegelt einen Belegungszustand der Pt-Elektrode wieder (HOARE 1968, VETTER 1961). Die pH-abhängige Welle zwischen +500 und +800 mV scheint auf die Adsorption von O_2 zurückzuführen zu sein. Bei +1000 mV beginnt schließlich die Abscheidung von O_2, deren Mechanismus z.B. HOARE 1968 und KORTÜM 1962 beschreiben.

C. Die Aktionsspektren

Die Photosyntheserate läßt sich am zuverlässigsten über eine Messung des O_2-Austausches bestimmen. Die Aufnahme eines Wirkungsspektrums setzt aber voraus, daß zwischen der zu erwartenden Wirkung und der Strahlungsenergie eine lineare Abhängigkeit besteht. Nach den Angaben von PICKETT und MYERS 1966 sind die Dosis-Effekt-Kurven der Photosynthese von Chlorella im sichtbaren Spektralbereich für Lichtintensitäten bis mindestens 10 000 $erg \cdot cm^{-2} \cdot sec^{-1}$ linear. In der vorliegenden Arbeit wurden die O_2-Raten bei 5050 $erg \cdot cm^{-2} \cdot sec^{-1}$ gemessen; die Meßpunkte liegen also im linearen Bereich der Kurven.

In der Literatur finden sich bereits etliche Wirkungsspektren der Photosynthese. Für Algen der Gattung Chlorella wurden solche Spektren z.B. von EMERSON und LEWIS 1943, HAXO 1960, MYERS und FRENCH 1960, KOWALLIK und KOWALLIK 1969 veröffentlicht. Sie sind denen anderer Grünalgen - z.B. Scene-

desmus obliquus (BISHOP 1967), Ulva taeniata (HAXO and BLINKS 1950), Ulva lobata (VIDAVER 1966) und Ulva lactuca (HALLDAL 1964) sehr ähnlich. Alle zeigen zwischen 490 und 730 nm nur ein einziges Maximum, das auf die Absorption durch das Chlorophyll a zurückgeht. Die Lage dieses Maximums schwankt zwischen 671 und 681 nm. Dabei ist aber zu bedenken, daß einige Autoren ihre Wirkungsspektren nur in verhältnismäßig großen Schritten ausgemessen haben und daß andererseits die starke Streuung im Gewebe bzw. in Zellaufschwemmungen die Lage des Aktionsmaximums verschieben kann (vgl. HAGEMEISTER 1968). Das Maximum dürfte bei 675-676 nm liegen. In vielen Wirkungsspektren von Grünalgen finden sich Schultern bei 630 und 650 nm, deren letztere auf Chlorophyll b zurückgeführt wird. Entsprechend der "Grünlücke" der Chlorophyll-Absorption findet sich auch in den Wirkungsspektren um 550 nm ein Minimum.

Die in der vorliegenden Arbeit gemessenen Aktionsspektren stimmen in ihrem Kurvenverlauf mit Chlorella - Wirkungsspektren anderer Autoren überein. Licht der Wellenlänge 676 nm brachte die höchste O_2-Ausbeute im gesamten untersuchten Bereich; bei 630 nm konnte eine sehr deutliche Schulter nachgewiesen werden.

Die Wirkungsspektren wurden mit Suspensionen geringer Zelldichte erarbeitet, weil nur dann einwandfreie Kurven zu erzielen sind. Dann ist nämlich gewährleistet, daß die gegenseitige Beschattung der Zellen im Bereich ihrer maximalen Absorption nicht zu einer Abflachung der Kurven führt. Das ist gelegentlich nicht beachtet worden; die von einzelnen Autoren veröffentlichten Spektren sind daher untypisch (vgl. z.B. KOWALLIK und KOWALLIK 1969).

In vivo-Absorptionsspektren von Chlorella liegen vor bei EMERSON und LEWIS 1943, SHIBATA, BENSON und CALVIN 1954, HAXO 1960, MYERS und GRAHAM 1968b, HALLDAL 1969. Der Abb. 29 ist das von MYERS und GRAHAM 1963b publizierte Spektrum zugrunde gelegt worden.

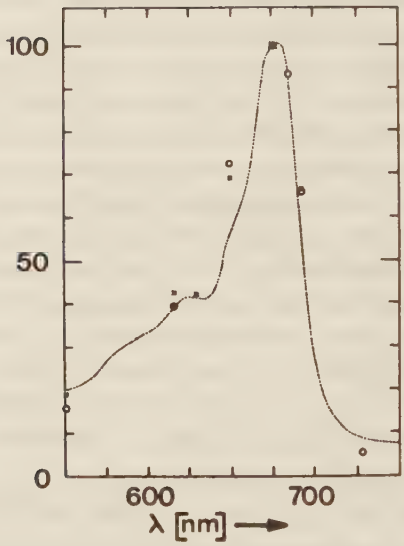

Abb. 29: Vergleich von Aktions- und Absorptionsspektrum in vivo von Chlorella pyrenoidosa. Die Werte bei 676 nm wurden gleich 100 gesetzt. Punktierte Kurve: Absorptionsspektrum in vivo (nach MYERS und GRAHAM 1963b). Kreuze: Aktionsspektrum mit 6-Minuten-Perioden (auf Energiegleichheit berechnet); Kreise: Aktionsspektrum mit 16-Minuten-Perioden (auf Energiegleichheit berechnet).

Der Vergleich läßt zwei wesentliche Differenzen erkennen: Licht der Wellenlänge 649 nm brachte eine weit höhere Ausbeute als nach dem Absorptionsspektrum zu erwarten gewesen

wäre. Es ist jedoch zu beachten, daß das Absorptionsspektrum von MYERS und GRAHAM 1963b mit Dauerlichtzellen, die eigenen Aktionsspektren aber mit Chlorella-Autosporen gemessen wurden. Da die unterschiedliche Zellgrößen-Verteilung von Dauerlicht-Zellen und Autosporen-Zellen ein unterschiedliches Streuverhalten mit sich bringt, und da dieses die Absorption beeinflußt, könnte die Differenz bei 649 nm eventuell hiermit erklärt werden.

Bei 728 nm war die O_2-Ausbeute verglichen mit dem Absorptionsspektrum klein. Nach unseren heutigen Vorstellungen kann bei 728 nm nur das Photosystem I angeregt werden. Eine Rückreduktion des oxidierten Elektronendonators durch Elektronen aus dem Photosystem II ist ausgeschlossen. Daß die Ausbeute trotzdem noch beachtlich hoch ist, mag im Zusammenhang mit dem Entwicklungszustand der verwendeten Algenzellen stehen. Bei Untersuchungen von SENGER und BISHOP 1969 stellte sich nämlich heraus, daß die photosynthetische Wirkung des eingestrahlten Lichts vom Alter der Zellen abhängt. Jedenfalls scheint bei Scenedesmus obliquus das Photosystem II zyklische Änderungen zu erfahren.

Die bei 551 nm geringere Ausbeute kann damit erklärt werden, daß bei Wellenlängen, die kürzer als 600 nm sind, eine lichtabhängige Atmungssteigerung erfolgt (z.B. KOWALLIK und KOWALLIK 1969). Jedoch ist dabei zu beachten, daß die lichtbedingte Atmungsförderung schon bei Intensitäten gesättigt ist (500 $erg \cdot cm^{-2} \cdot sec^{-1}$ (KOWALLIK 1967)), die um eine volle Größenordnung unterhalb der hier eingestrahlten Energien liegen.

D. Das ausgeschiedene Oxidationsmittel

Über die Natur des von Chlorella-Zellen ausgeschiedenen Elektronenakzeptors läßt sich noch wenig sagen. Merkwürdig ist dessen diskontinuierliche Abgabe. Die Ergebnisse scheinen aber auszuschließen, daß hier ein Artefakt vorliegt.

Nach der mikroskopischen Kontrolle der Algensuspensionen ist es unwahrscheinlich, daß das fragliche "Oxidationsäquivalent" von Bakterien statt von den Algen selbst abgegeben wird. Es scheint so zu sein, daß die Menge des Ausscheidungsprodukts von der Zeit abhängt, die zwischen der Ernte der Algen und dem Versuchsbeginn verstreicht.

Schwer zu beurteilen ist vorläufig, ob dieser Effekt auf den gewählten Entwicklungszustand der Algen (junge Autosporen) beschränkt ist. Autosporen, die nach dem Einstellen der Zellzahl für 60 Stunden in die Kulturanlagen zurückgegeben wurden, und sich dort im Dunkeln weiterentwickeln konnten (vgl. Abb. 15), zeigten den fraglichen Effekt nicht. In zwei Fällen erfolgte der Ausstoß des Oxidationsmittels unmittelbar nach Beendigung der O_2-Aufnahme, ohne daß eine längere Anaerobiose eingeschaltet gewesen wäre. Es ist in diesem Zusammenhang bemerkenswert, daß LORENZEN und HESSE 1968 zeigen konnten, daß in Autosporen - zumindest im Dunkeln - Stoffwechselvorgänge ablaufen, die uns noch weitgehend unbekannt sind.

Für eine weitere Charakterisierung des Ausscheidungsproduktes mögen mehrere Beobachtungen interessant werden, wonach Chlorella-Zellen unter anaeroben Bedingungen zur Milchsäure-Gärung übergehen können (DAMASCHKE 1957); andere Autoren haben Äthanol als Gärprodukt beschrieben (vgl. WHITTINGHAM 1960). Alle diese Produkte würden aber - ebenso wie CO_2 und der gelegentlich abgeschiedene Wasserstoff - keine mit dem O_2 vergleichbare Stufe geben. Ebenso läßt sich H_2O_2 mit der rotierenden Pt-Elektrode nicht nachweisen. Immerhin ist nicht auszuschließen, daß sauerstoffhaltige Intermediärprodukte im Dunkeln O_2 abspalten. Wollte man annehmen, daß die Zellen tatsächlich Sauerstoff abgeschieden haben, so müßte man fordern, daß in der N_2-Atmosphäre ihre Fähigkeit, O_2 als Elektronenakzeptor zu nutzen, verloren geht. Andererseits setzt die Atmung sogleich - d.h. ohne sichtbare Anlaufphase - wieder ein, wenn die Algen erneut sauerstoffhaltige Gasgemische erhalten. Demnach ist kein Einfluß der Anaerobiose

auf die Atmung zu erkennen. Schon mehrfach ist die Abnahme der Photosyntheseleistung nach Gärung beschrieben worden (vgl. KESSLER 1960). Dabei muß allerdings offen bleiben, ob es sich um eine unspezifische Hemmung durch die Ansäuerung oder aber um einen spezifischen Einfluß von Gärprodukten handelt.

E. Zusammenfassung

Die beiden Meßreihen - Aufnahme eines Wirkungsspektrums der Photosynthese und Verfolgung des Gasaustausches unter anaeroben Bedingungen - mögen zeigen, daß die rotierende Platin-Elektrode zur Messung von Sauerstoff-Umsätzen in biologischen Systemen brauchbar ist.

V. Zusammenfassung

Es wurde eine Versuchsanordnung entwickelt, welche die kontinuierliche Messung des Sauerstoff-Partialdrucks in Algensuspensionen in absoluten Einheiten gestattet. Sie beruht auf der Registrierung des Grenzstromes, der sich an einer rotierenden Platin-Elektrode einstellt.

Die unmittelbar in die Meßlösung eintauchende Elektrode zeigte eine Empfindlichkeit von 5×10^{-7} A/mm Hg O_2 bei einer Ansprechzeit von 1 Sekunde.

Die Messungen erfolgten in einem eigens für diese Experimente konstruierten Meßgefäß, das für photobiologische Untersuchungen gut geeignet ist.

Für Suspensionen von Chlorella-Autosporen wurde das Wirkungsspektrum der Photosynthese bestimmt.

Es wurde beobachtet, daß anaerob gehaltene Autosporen-Suspensionen im Dunkeln einen noch unbekannten Elektronenakzeptor ausscheiden.

VI. Literaturverzeichnis

ADLER, K.: Eine Anordnung zur Messung kleiner Sauerstoffaustauschraten photosynthetisierender Algen bei geringen Lichtintensitäten. - Kulturpflanze 15, 151-160 (1967).

BANNISTER, T.T. and M.J. VROOMAN: Enhancement of the photosynthesis of Chlorella pyrenoidosa as a function of farred and short-wave illuminations. - Plant Physiology 39, 622-629 (1964).

BEDELL, G. and GOVINDJEE: Quantum yield of oxygen evolution and the Emerson enhancement effect in deuterated Chlorella. - Science 152, 1383-1385 (1966).

BISHOP, N.I.: Comparison of the action spectra and quantum requirements for photosynthesis and photoreduction of Scenedesmus. - Photochem. Photobiol. 6, 621-628 (1967).

BISHOP, P.M. and C.P. WHITTINGHAM: Emerson effect in isolated chloroplasts. - Nature 197, 1225-1226 (1963).

BLINKS, L.R. and R.K. SKOW: The time course of photosynthesis as shown by a rapid electrode method for oxygen. - Proc. Nat. Acad. Sci. USA 24, 420-427 (1938).

BRIANTAIS, J.-M.: Variations transitoires de l'absorption d'oxygène, lors du passage de la lumière à l'obscurité, des chloroplastes isolés et des Chlorelles. - Physiol. Vég. 1, 283-314 (1963).

BRIANTAIS, J.-M.: Rétablissement du lien entre deux structures chloroplastiques isolées par action du Triton X-100. - Biochim. Biophys. Acta 143, 650-653 (1967).

CARRITT, D.E. and J.W. KANWISHER: An electrode system for measuring dissolved oxygen. - Anal. Chem. 31, 5-9 (1959).

CLARK, L.C., R. WOLF, D. GRANGER, and Z. TAYLOR: Continuous recording of blood oxygen tensions by polarography. - J. appl. Physiol. 6, 189-193 (1953).

DAMASCHKE, K.: Die Wasserstoffgärung von Chlorella im Dunkeln nach Anaerobiose unter Stickstoff. - Z. Naturforsch. 12b, 441-443 (1957).

EGNEUS, H.: Primary photosynthetic induction phenomena in wheat. - Physiol. Plant 20, 463-476 (1967).

EMERSON, R., R. CHALMERS, and C. CEDERSTRAND: Some factors influencing the long-wave limit of photosynthesis. - Proc. Nat. Acad. Sci. USA 43, 133-143 (1957).

EMERSON, R. and C.M. LEWIS: The dependence of the quantum yield of Chlorella photosynthesis on wavelength of light. - Amer. J. Bot. 30, 165-178 (1943).

ETIENNE, A.L.: Etude de l'étape thermique de l'émission photosynthétique d'oxygène par une méthode d'écoulement. - Biochim. Biophys. Acta. 153, 895-897 (1968).

FORK, D.C.: A teflon-covered electrode assembly. - Carnegie Inst. of Wash. Year Book 61, 343-345 (1962).

FORK, D.C.: Action spectrum for O_2-evolution by chloroplasts. - Plant Physiol. 38, 323-332 (1963).

GINGRAS, G.: Etude comparative, chez quelques algues, de la photosynthèse et de la photoréduction réalisée en présence d'hydrogène. - Physiol. Vég. 4, 1-65 (1966).

GINGRAS, G. and C. LEMASSON: A study of the mode of action of 3-(4-chlorophenyl)-1,1-dimethylurea on photosynthesis. - Biochim. Biophys. Acta 109, 67-78 (1965).

GLEICHMANN, U. und D.W. LÜBBERS: Die Messung des Sauerstoffdruckes in Gasen und Flüssigkeiten mit der Pt-Elektrode unter besonderer Berücksichtigung der Messung im Blut. - Pfluegers Arch. Gesamte Physiol. Menschen Tiere 271, 431-455 (1960).

GOVINDJEE and R. GOVINDJEE: Two different manifestations of enhancement in the photosynthesis of Porphyridium cruentum in flashing monochromatic light. - Photochem. Photobiol. 4, 401-415 (1965).

GOVINDJEE and E. RABINOWITCH: Two forms of chlorophyll a in vivo with distinct photochemical functions. - Science 132, 355-356 (1960).

GOVINDJEE and E. RABINOWITCH: Action spectrum of the "second Emerson effect". - Biophysical J. 1, 73-89 (1961).

GUALANDI, G.: Misure amperometriche di aerazione e respirazione in sistemi biologici. - Chim. Ind. (Mailand) 35, 759 (1953).

HAGEMEISTER, V.: Aufnahme und Auswertung von Absorptionsspektren einzelliger Algen. - Diss. Tübingen 1968.

HALLDAL, P.: Ultraviolet action spectra of photosynthesis and photosynthetic inhibition in a green and a red alga. - Physiol. Plant. 17, 414-421 (1964).

HALLDAL, P.: Automatic recording of action spectra of photobiological processes, spectrophotometric analyses, fluorescence measurements and recording of the first derivative of the absorption curve in one simple unit. - Photochem. Photobiol. 10, 23-34 (1969).

HAXO, F.T.: The wavelength dependence of photosynthesis and the role of accessory pigments. - In M.B. ALLEN (Ed.): "Comparative biochemistry of photoreactive systems". - Academic Press New York, 1960, 339-360.

HAXO, F.T. and L.R. BLINKS: Photosynthetic action spectra of marine algae. - J. Gen. Physiol. 33, 389-422 (1950).

HEYROVSKY, J. und P. ZUMAN: Einführung in die praktische Polarographie. - VEB Verlag Technik Berlin 1959.

HOARE, J.P.: The electrochemistry of oxygen. - Interscience Publishers New York, London, Sydney, Toronto 1968.

HODGMAN, C.D., R.C. WEAST and S.M. SELBY: Handbook of chemistry and physics. - Chemical Rubber Publishing Co. 39. Aufl., Cleveland (Ohio) 1957.

JOLIOT, P.: Contribution à l'étude des phénomènes d'induction de la photosynthèse. - Thèse Paris 1961.

JOLIOT, P.: Cinétiques des réactions liées à l'émission d'oxygène photosynthétique. - Biochim. Biophys. Acta 102, 116-134 (1965a).

JOLIOT, P.: Etudes simultanées des cinétiques de fluorescence et d'émission d'oxygène photosynthétique. - Biochim. Biophys. Acta 102, 135-148 (1965b).

JOLIOT, P.: Kinetic studies of photosystem II in photosynthesis. - Photochem. Photobiol. 8, 451-463 (1968).

JOLIOT, P., G. BARBIERI et R. CHABAUD: Un nouveau modèle des centres photochimiques du système II. - Photochem. Photobiol. 10, 309-329 (1969).

JOLIOT, P. and A. JOLIOT: A polarographic method for detection of oxygen production and reduction of Hill reagent by isolated chloroplasts. - Biochim. Biophys. Acta 153, 625-634 (1968).

JOLIOT, P., A. JOLIOT and B. KOK: Analysis of the interactions between the two photosystems in isolated chloroplasts. - Biochim. Biophys. Acta 153, 635-652 (1968).

JOLIOT, P. et J. LAVOREL: Les réactions primaires de la photosynthèse. - Bull. Soc. Chim. biolog. 46, 1607-1626 (1964).

JONES, L.W. and J. MYERS: Enhancement in the blue-green alga, Anacystis nidulans. - Plant Physiology 39, 938-946 (1964).

KESSLER, E.: Der Einfluß von Sauerstoff auf die Photosynthese. - In W. RUHLAND (Ed.) "Handbuch der Pflanzenphysiologie" V, 1, 935-950. - Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg 1960.

KOHLRAUSCH, E.: Praktische Physik, 22. Aufl. - Verlag B.G. Teubner Stuttgart 1968.

KOLTHOFF, J.M. und H.A. LAITINEN: The voltammetric determination of oxygen. - Science 92, 152-154 (1940).

KORTÜM, G.: Lehrbuch der Elektrochemie. - 3. Aufl. - Verlag Chemie Weinheim/Bergstr. 1962.

KOUCHKOVSKY, Y. de: Induction photosynthétique des chloroplastes isolés. - Physiol. Vég. 1, 15-76 (1963).

KOUCHKOVSKY, Y. de: Kinetics of enhancement. - Carnegie Inst. of Wash. Year Book 63, 447-453 (1964).

KOUCHKOVSKY, Y. de: Kinetics of the two-light effect on the photosynthetic oxygen outburst. - Carnegie Inst. of Wash. Year Book 64, 397-398 (1965).

KOUCHKOVSKY, Y. de, et P. JOLIOT: Cinétique des échanges d'oxygène et de la fluorescence des chloroplastes isolés. - Photochem. Photobiol. 6, 567-587 (1967).

KOWALLIK, U. und W. KOWALLIK: Eine wellenlängenabhängige Atmungssteigerung während der Photosynthese von Chlorella. - Planta 84, 141-157 (1969).

KOWALLIK, W.: Action spectrum for an enhancement of endogenous respiration by light in Chlorella. - Plant Physiol. 42, 672-676 (1967).

LAITINEN, H.A. and I.M. KOLTHOFF: Voltammetry with stationary microelectrodes of platinum wire. - J. Physic. Chem. 45, 1061-1079 (1941a).

LAITINEN, H.A. and I.M. KOLTHOFF: Voltammetric determinations and amperometric titrations with a rotating microelectrode of platinum wire. - J. Physic. Chem. 45, 1079-1093 (1941b).

LONGMUIR, I.S. and F. ALLEN: The polarographic determination of oxygen. I. - Partial pressure or oxygen concentration? - J. Polarogr. Soc. 8, 63-65 (1961).

LORENZEN, H.: Die photosynthetische Sauerstoffproduktion wachsender Chlorella bei langfristig intermittierender Belichtung. - Flora (Jena) 147, 382-404 (1959).

LORENZEN, H.: Synchronization of Chlorella with light-dark changes and periodical dilution of the population to a standard cell number. - In E. ZEUTHEN (Ed.): "Synchrony in cell division and growth". - Interscience Publishers New York, London, Sydney 1964, 571-578.

LORENZEN, H. und M. HESSE: Nachweis endogen bedingter Leistungsschwankungen bei Chlorella. - Z. Pflanzenphysiol. 58, 454-456 (1968).

LUNDEGARDH, H.: Action spectra of photosynthetic activities of Chlorella ellipsoidea. - Physiol. Plant. 19, 541-553 (1966).

McLEOD, G.C. and J. KANWISHER: The quantum efficiency of photosynthesis in ultraviolet light. - Physiol. Plant. 15, 581-586 (1962).

MEITES, L.: Polarographic techniques. - 2. Aufl. - Interscience Publishers New York, London, Sydney 1965.

MORGAN, E.H. and G.G. NAHAS: Study of relationship of arterial oxygen tension to alveolar oxygen pressure in man utilizing a polarometric method for whole blood. - Amer. J. Physiol. 163, 736 (1950).

MYERS, J. and C.S. FRENCH: Evidences from action spectra for a specific participation of chlorophyll b in photosynthesis. - J. Gen. Physiol. 43, 723-736 (1960).

MYERS, J. and J.-R. GRAHAM: Further improvements in stationary platinum electrode of Haxo & Blinks. - Plant Physiol. 38, 1-5 (1963a).

MYERS, J. and J.-R. GRAHAM: Enhancement in Chlorella. - Plant Physiol. 38, 105-116 (1963b).

PETERING, H.G. and F. DANIELS: The determination of dissolved oxygen by means of the dropping mercury electrode, with applications in biology. - J. Amer. Chem. Soc. 60, 2796-2802 (1938).

PICKETT, J.M. and J. MYERS: Monochromatic light saturation curves for photosynthesis in Chlorella. - Plant Physiol. 41, 90-98 (1966).

RIED, A.: Interactions between photosynthesis and respiration in Chlorella. - I. Types of transients of oxygen exchange after short light exposures. - Biochim. Biophys. Acta 153, 653-663 (1968).

RIED, A.: Studies on light-dark transients in Chlorella. - In H. METZNER (Ed.): "Progress in Photosynthesis Research", I, 512-530, Tübingen 1969.

SCHOSER, G.: Eine Anlage zur Erzeugung monochromatischer Strahlung für photobiologische Untersuchungen. - Ber. Deut. Bot. Ges. 79, 271-278 (1966).

SCHRAMM, W.: Kontinuierliche Messung der Assimilation und Atmung mariner Algen mittels der elektrochemischen Sauerstoffbestimmung. - Helgolaender wiss. Meeresunters. 13, 275-287 (1966).

SENGER, H.: Untersuchungen zur Synchronisation von Chlorella-Kulturen. - Arch. Mikrobiol. 40, 47-72 (1961).

SENGER, H. and N.I. BISHOP: Changes in the photosynthetic apparatus during the synchronous life cycle of Scenedesmus obliquus. - In H. METZNER (Ed.): "Progress in Photosynthesis Research", I, 425-434, Tübingen 1969.

SHIBATA, K., A.A. BENSON and M. CALVIN: The absorption spectra of suspensions. - Biochim. Biophys. Acta 15, 461-470 (1954).

TANADA, T.: The photosynthetic efficiency of carotenoid pigments in Navicula minima. - Amer. J. Bot. 38, 276-283 (1951).

TÖDT, F.: Elektrochemische Sauerstoffbestimmungen. - Verlag Walter de Gruyter Berlin 1958.

VETTER, K.J.: Elektrochemische Kinetik. - Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg 1961.

VIDAVER, W.: Gas-flow electrode assembly for measurements of rate of O_2 exchange. - Carnegie Inst. of Wash. Year Book 63, 466-468 (1964).

VIDAVER, W.: Separate action spectra for the two photochemical systems of photosynthesis. - Plant Physiol. 41, 87-89 (1966).

VIDAVER, W. and T. CHANDLER: Metabolic inhibitors and photosynthetic induction transients. - In H. METZNER: "Progress in Photosynthesis Research", I, 514-520, Tübingen 1969.

WARSHOWSKY, B. and E.J. SCHANTZ: Method for determination of dissolved oxygen. - Application to liquid bacterial cultures. - Anal. Chem. 26, 1811-1814 (1962).

WHITTINGHAM, C.P.: Respiration of algae. - In W. RUHLAND (Ed.): "Handbuch der Pflanzenphysiologie", XII, 2, 447-454, Springer-Verlag Berlin, Göttingen, Heidelberg 1960.

WOLF, S.: Rapid-Polarographie - eine neue Methode zur schnellen Aufzeichnung von Strom-Spannungskurven. - Chem. Rundschau 13, 45-50 (1960).

WOLF, S.: Polarecord E 261 R - ein Universalgerät für polarographische und andere elektrochemische Analysenverfahren. - Jahrb. Chem. Ind. 10, 1-7 (1961).

LEBENSLAUF

Am 29. August 1938 wurde ich, Karl Hermann Harms, in Wuppertal geboren. Meine Eltern sind: techn. Bundesbahnoberamtsrat Wilhelm Harms und Else Harms, geb. Koblenzer.

Ab Ostern 1945 bis Ostern 1949 besuchte ich die Volksschule in Essen; anschließend besuchte ich das Helmholtz-Gymnasium in Essen (neusprachlicher Zweig), an dem ich im März 1958 die Reifeprüfung ablegte.

Vom Sommersemester 1958 bis zum Wintersemester 1960/61 studierte ich an der Universität Gießen Biologie. Ab Sommersemester 1961 setzte ich mein Studium in Botanik, Zoologie und Biochemie in Tübingen fort. Ab Sommersemester 1962 arbeitete ich unter der Anleitung von Herrn Prof. Dr. H. Metzner im Institut für Chemische Pflanzenphysiologie der Universität Tübingen an der vorliegenden Dissertation "Gaswechselmessungen mit rotierenden Platin-Elektroden". Die Versuche wurden im September 1969 beendet.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren:
in Gießen: Ankel, von Denffer, Glathe, Hanle, Hofer, Knapp, Kröhnke, Steubing;
in Tübingen: Bayer, Bünning, Grell, Mägdefrau, Metzner, Möhres, Müller, Peters, Risler, Schweizer, Weitzel.